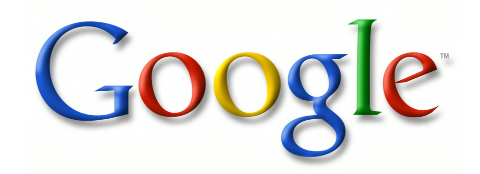



LANE MEDICAL LIBRARY STANFORD
J34 .F91 1884 STOR
Microscopische technik, zum Gebrauch bei
24503335378



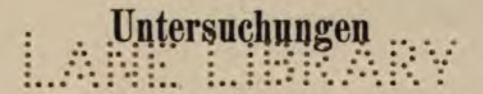




Microscopische Technik

zum Gebrauch bei

medicinischen und pathologisch-anatomischen Untersuchungen



von

Dr. Carl Friedlaender,

Privatdocent der pathologischen Anatomie zu Berlin.

Zweite vermehrte und verbesserte Auflage.

Mit einer Tafel in Chromolithographie.



BERLIN.

VERLAG VON THEODOR FISCHER's MED. BUCHHANDLUNG.

1884.

Vorwort.

Von mehreren Seiten her ist an den Verfasser die Aufforderung herangetreten, eine kurze Darstellung derjenigen Methoden zu geben, welche bei den microscopischen Untersuchungen zu diagnostischen und pathologischen Zwecken verwendet werden. Diese Methodik, welche noch in den sechziger Jahren eine höchst einfache war, ist allmählich etwas complicirter geworden und hat nach vielen Richtungen hin sehr erhebliche Verbesserungen und Verfeinerungen erfahren. Ein guter Theil der überraschenden Fortschritte, welche innerhalb der letzten Jahre besonders auf dem Gebiete der pflanzlichen Parasiten gemacht worden sind, resultirt direct aus den Fortschritten der Methode.

Wenn demnach Jeder, der den Fortschritten der Pathologie zu folgen strebt, auch die neuere Methodik kennen lernen muss, so liegt diese Nothwendigkeit in noch höherem Grade bei Demjenigen vor, der selbst microscopische Untersuchungen zu ärztlichen und pathologischen Zwecken vorzunehmen wünscht.

Eine zusammenfassende Darstellung der pathologisch-histologischen Methodik fehlte bis jetzt und wurde von vielen Seiten schmerzlich vermisst; das vorliegende kleine Buch hat die Tendenz, diese Lücke auszufüllen. Dass die Technik der Untersüchungen auf Schizomyceten mit grösserer Ausführlichkeit und mit besonderer Vorliebe behandelt worden ist, dürfte wohl allseitig gebilligt werden.

Mehrmals musste auch auf die diagnostische und prognostische Bedeutung der Befunde näher eingegangen werden; ausführlicher geschah dies bei der Besprechung der Tuberkelbacillen in den Sputis und bei der Unterscheidung zwischen Erosion und Carcinom am Uterus.

Möge das Büchlein die Aufgabe erfüllen, dem Anfänger auf dem ebenso reizvollen wie schwierigen Gebiete als Wegweiser zu dienen; vielleicht findet auch der Erfahrene hie und da einen brauchbaren Fingerzeig.

Berlin, städtisches Krankenhaus, im August 1882.

Carl Friedlaender.

Vorwort zur zweiten Auflage.

Schon nach relativ kurzer Zeit ist eine zweite Auflage dieses Schriftchens nothwendig geworden; ich habe es mir angelegen sein lassen, unter den vielen neuen methodologischen Vorschlägen diejenigen herauszusuchen und dem Texte beizufügen, welche wesentliche Verbesserungen für unsere Zwecke mit sich bringen. Ausserdem habe ich auf vielfachen Wunsch eine Zusammenstellung der wichtigsten und am meisten charakterisirten pathogenen Schizomyzeten auf der beigegebenen Farbentafel gegeben. Die Zeichnungen verdanke ich meinem verehrten Freunde und Mitarbeiter Herrn Dr. Gram aus Kopenhagen; sie sind sämmtlich bei derselben Vergrösserung, 1:1000, ausgeführt.

Berlin, April 1884.

Der Verfasser.

Inhalt.

I. Microscop.

II. Sonstige Utensilien.

III. Reagentien. Microchemie.

Reagentien zum Färbungsverfahren.

Nachweis und Färbung der Schizomyceten.

IV. Anderweitige Vorbereitungsmethoden.

V. Beobachtung lebender Gewebe.

VI. Untersuchung von Flüssigkeiten.

I. Microscop.

Für die Wahl eines Microscops ist als Grundsatz aufzustellen, dass die Linsen und das Stativ vollkommen tadelfrei sein müssen. Man lasse sich nicht durch einen etwas niedrigeren Preis dazu verleiten, ein Instrument von geringerer Qualität anzukaufen; die meisten Dinge, die für uns zur microscopischen Untersuchung kommen, sind so schwierig, die Conturen so zart etc., dass es nur unter den günstigsten Bedingungen gelingt, sie in ausreichender Weise und ohne grossen Zeitverlust zur Anschauung zu bringen. Darum wählt man am besten von vorn herein ein Instrument von einer renommirten, zuverlässigen Werkstatt; sollte eine der gelieferten Linsen resp. andere Bestandtheile nicht *allen* berechtigten Anforderungen genügen, so sendet man dieselben sofort zurück; denn nichts ist widerwärtiger, als ein jahrelanger Kampf mit einem unvollkommenen Microscop.

Dagegen ist es durchaus nicht erforderlich, gleich zu Anfang die stärksten Objectivsysteme anzukaufen, welche den Preis der Instrumente wesentlich vertheuern. Der Anfänger thut am besten daran, für die erste Zeit nur schwache und mittlere Vergrösserungen, bis höchstens 300, zu benutzen; die Handhabung der noch stärkeren Linsen ist mit so vielen Schwierigkeiten verknüpft und verlangt eine so peinliche Accuratesse, dass es entschieden gerathen ist, sich erst längere Zeit durch Arbeiten mit schwächeren Vergrösserungen darauf vorzubereiten.

1. Stativ, Abbé'scher Apparat.

Das *Stativ* muss so eingerichtet sein, dass es auch für die stärksten Systeme noch brauchbar ist, besonders muss der Gang der Micrometerschraube genügend fein sein; der Tisch gross, solide und feststehend, die Oeffnung nicht zu klein, so dass z. B. ein Rückenmarksquerschnitt (bei schwacher Vergrösserung und herausgenommener Blendung) noch *in toto* untersucht werden kann. Die Einrichtung zum Umlegen der Stative ist der Regel nach überflüssig.

Die Cylinderblendungen (die Scheibenblendungen sind weniger vollkommen) müssen selbstverständlich exact centrirt und leicht zu wechseln sein.

Bei ungefärbten Objecten wendet man enge Blendungen an, um die Structuren bei stärkerer Vergrösserung scharf zur Anschauung zu bringen; für schwache Vergrösserungen ist es gewöhnlich nothwendig, eine weitere Blendung einzusetzen, um das volle Gesichtsfeld ausnützen zu können.

Für alle Fälle wünschenswerth und für Untersuchungen auf Schizomyceten nothwendig ist ein Condensor resp. ein Abbé'scher Apparat. Die von dem Spiegel auf die Linse des Condensors geworfenen Lichtstrahlen werden durch dieselbe so gebrochen, dass sie sämmtlich in einen Punkt (Brennpunkt) zusammenlaufen, dieser Punkt liegt nun genau an der Stelle des Objects. Auf diese Weise erhält das Object eine colossale Menge von Licht, und zwar nicht nur, wie bei der gewöhnlichen Untersuchung mit engem Diaphragma ein Bündel annähernd paralleler Strahlen von unten her, sondern einen ganzen Kegel von möglichst grossem Oeffnungswinkel, in dessen Spitze eben das Object gelegen ist. Dadurch gehan die feinen Conturen des transparenten Objects, soweit sie auf Unterschieden des Lichtbrechungsvermögens beruhen, fast vollständig verloren, die Conturen werden (nach dem Ausdrucke Koch's) ausgelöscht. Um so schärfer treten die gefärbten Parthien desselben hervor (Isolirung des Farbenbildes, Koch) welche durch die Conturen der nicht gefärbten Theile vorher theilweise oder ganz verdeckt wurden; und so gelingt es durch die Untersuchung mit dem offenen Condensor sehr oft, intensiv gefärbte Microorganismen (oder sonstige kleine, gefärbte Körper) als solche zu erkennen, die bei gewöhnlicher Beleuchtung durch das Structurbild verdeckt werden und deshalb nur undeutlich oder selbst gar nicht erkennbar sind. Der Oeffnungswinkel des Lichtkegels beträgt bei dem Condensor des Abbé'schen Apparats 120°, die früher angefertigten Condensoren geben gewöhnlich einen viel kleineren Winkel und reichen daher nicht aus. Unter der Linse des Condensors befindet sich eine Scheibe mit verschieden grossen, zu wechselnden Diaphragmen; bei Anwendung eines engen Diaphragma's erhält man selbstverständlich eine ganz ähnliche Beleuchtung, wie bei einer engen Cylinderblendung; zur Isolirung des Farbenbildes werden die Blendungen vollständig entfernt. Die anderen complicirten Einrichtungen des Abbé'schen Apparats sind für unsre Zwecke bis jetzt nicht von wesentlicher Bedeutung. Dagegen ist die Benutzung der offenen Condensorbeleuchtung für alle gefärbten Präparate von sehr grossem Nutzen, für viele schwierige Untersuchungen sogar unentbehrlich; die Einführung dieser Methode verdanken wir Koch*).

Bei der Auswahl des Stativs muss also darauf geachtet werden, dass ein gut gearbeiteter Condensor mit grossem Oeffnungswinkel resp. ein

*) R. Koch, Untersuchungen für Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig 1878.

Abbé'scher Apparat angebracht ist oder wenigstens angebracht werden kann. Der Anfänger kann diesen Apparat vollständig entbehren, er kommt wesentlich nur für feinere Untersuchungen und für starke Vergrösserungen zur Verwendung.

2. Objectivsysteme. Wasser- und Oel-Immersionen.

Was die Auswahl der Linsen betrifft, so sind erforderlich an Objectivsystemen:

1. ein ganz schwaches, von etwa 30 mm äquivalenter Brennweite, welches mit dem mittleren Ocular eine Vergrösserung von etwa 20 giebt; zur Totalübersicht grosser Schnitte z. B. aus Gehirn und Rückenmark, Leber, Nieren, zur Trichinenschau etc.

2. ein mittelschwaches, etwa 15 mm äquiv. Brennweite zur Erzielung einer etwa 60—80fachen Vergrösserung.

3. ein mittelstarkes, etwa 4 mm äquiv. Brennweite, für 300fache Vergrösserung.

4. ein ganz starkes Immersionssystem, äquiv. Brennweite 1,5—2 mm für feinere Untersuchungen.

Gewöhnlich wird für unsre Zwecke die 80fache und die 300fache Vergrösserung am meisten gebraucht werden.

Die Immersionssysteme*), welche zur Erzielung ganz starker Vergrösserungen in Anwendung kommen, erfordern in ihrer Handhabung eine gewisse Sorgfalt und Uebung. Der Anfänger wird wie schon erwähnt am besten thun, für die erste Zeit auf sie zu verzichten. Worauf die Vortheile der Immersion beruhen, lässt sich ohne genauere physikalische Entwickelungen nicht auseinandersetzen; für uns mag Folgendes genügen: Bei dem Uebergange der Strahlen von der oberen Fläche des Deckglases in die Luft und weiterhin von der Luft in die untere Fläche der Objectivlinse des Microscops werden nur diejenigen Strahlen nicht alterirt, welche die betr. Flächen senkrecht treffen; die schief auffallenden Strahlen werden in ihrem Gange verändert, und zwar um so mehr, je spitzer der Winkel ist, in dem sie auffallen. Nennen wir nun den Oeffnungswinkel eines Objectiv-Systems denjenigen Winkel, den die von dem Objectpunkt nach dem äussersten Rande der Linse gehenden divergirenden Strahlen, (die über dem Objectiv in einem Bildpunkt wieder vereinigt werden) mit einander bilden, so ist es klar, dass dieser Oeffnungswinkel bei Trockensystemen nicht über einen gewissen Grad gesteigert werden kann, wenn die Schärfe

*) Die übliche Bezeichnung der Immersionssysteme: 1/12, 1/18 bezieht sich auf die äquivalente Brennweite derselben, die nach englischer Sitte in Zollen ausgedrückt wird; 1/12 entspricht 2 mm, 1/18 etwa 1,3 mm.

des Bildes erhalten bleiben soll*). Denn die peripher auffallenden, durch den schiefen Uebergang vom Glas zur Luft und von der Luft zum Glas zweimal abgelenkten Strahlen scheinen von einem anderen Punkte auszugehen, als die mehr central verlaufenden Strahlen; es kommt somit zu der sphärischen Aberration der Linse noch ein anderes Moment hinzu, welches die Ausnutzung eines möglichst grossen Oeffnungswinkels behindert. Dieser Uebelstand wird wesentlich verringert, wennn wir zwischen Deckglas und Objectivlinse eine Wasserschicht einschalten (Wasserimmersion), da ja die Differenz des Brechungsvermögens zwischen Wasser und Glas viel geringer ist, als zwischen Luft und Glas; er kann aber fast ganz beseitigt werden, wenn man eine Flüssigkeit einschaltet, welche dasselbe Brechungsvermögen hat, wie die Substanz des Glases: Homogene Immersion, Oelimmersion. Man benutzt hierzu**) Cedernholzöl oder eine Mischung von Fenchel- und Ricinusöl; neuerdings wird auch eine Mischung von Chloralhydrat und Glycerin empfohlen. Diese Oelimmersionssysteme sind das Maximum der Leistungen unserer Optiker; durch ihre Einführung haben sich Abbé, Zeiss und Stephenson ein grosses Verdienst erworben. Mit der Vergrösserung des Oeffnungswinkels steigert sich nicht nur die Helligkeit des Bildes, sondern auch das Unterscheidungsvermögen, die sog. auflösende Kraft des Instruments auf einen Grad, der früher nicht erreicht wurde.

Die Anwendung der Oelimmersionen ist auch für einen geübten, an sauberes, subtiles Arbeiten gewöhnten Microscopiker nicht ohne Schwierigkeiten. Bei Wasserimmersionslinsen lernt man sehr bald die Grösse des Tropfens zu bestimmen, der mittelst eines Glasstäbchens auf die Frontlinse des Systems oder auf das Deckglas des Objects gebracht wird; weiter hat man nur zu verhüten, dass der Tropfen destillirten Wassers auf dem Deckglase nicht etwa über den Deckglasrand hinaus kommt und mit der Flüssigkeit, in der das Präparat liegt, in Berührung tritt. Bei eingekitteten, conservirten Präparaten liegt auch diese Schwierigkeit nicht vor; den Tropfen entfernt man dann von dem Deckglase sehr leicht durch eine feine Glascapillare. Dagegen kann der Oeltropfen nur durch energisches

---

*) Durch die sogen. „Correction“ wird dieser Nachtheil wenigstens zum Theil vermieden, vgl. die folgende Anmerkung.

**) Es ist dies nur einer der Vortheile, welche die Immersionssysteme darbieten, ausserdem sind sie in Folge der Reflexions- und Brechungsverhältnisse lichtstärker als Trockensysteme von gleichem Oeffnungswinkel, wie man sich leicht klar machen kann. Um den Einfluss der verschieden dicken Deckgläser zu corrigiren, werden die starken Trockensysteme und Wasserimmersionen in sogen. Correctionsfassungen gegeben, welche gestatten, die Linsen, aus denen das System besteht, einander zu nähern resp. zu entfernen. Man muss dann für jede Deckglasdicke die Stellung der Correctionsschraube bestimmen, bei welcher das schärfste microscopische Bild zu Stande kommt. Bei der homogenen Immersion ist diese Correction natürlich überflüssig.

Wischen vom Deckglase vollständig entfernt werden; meist kann man sich damit begnügen, das überschüssige Oel durch leises Herüberstreichen mit feinem Fliesspapier wegzunehmen und lässt die ganz dünne restirende Oelschicht auf dem Deckglase.

3. Oculare. Nebenapparate. Combinationen.

Von Ocularen benutzt man gewöhnlich zwei, ein schwächeres zu gewöhnlichen Arbeiten, ein stärkeres für besondere Fälle; eines derselben enthält den Micrometer.

Von Nebenapparaten, die der Optiker liefert, sind zu nennen:

1. ein Revolverapparat zum schnellen Wechseln der Objectivsysteme.

2. ein Zeichenapparat, am besten das knieförmig gebogene sog. Oberhäuser'sche Modell mit zwei Prismen.

3. Polarisationsapparat.

4. Spectroscop.

Die beiden letzteren Apparate werden neuerdings von Herren Schmidt und Haensch in Berlin combinirt gearbeitet.

5. Erwärmbarer Objecttisch nach M. Schultze oder nach Stricker.

Schliesslich geben wir als Proben einige empfehlenswerthe Combinationen für den Ankauf von Microscopen; vielleicht sind diese Angaben für den Leser zu verwerthen, da es nicht immer leicht ist, aus den Catalogen der Optiker das Nothwendige und Wünschenswerthe herauszufinden. Fast jeder Optiker hat seine eigne Nomenclatur; als Vergleichsobject bleibt nur die äquivalente Brennweite.

Dass in wissenschaftlichen Arbeiten zur Veranschaulichung der angewendeten Vergrösserung oft genug die Nummer des Objectivsystems angeführt wird, muss als Missbrauch bezeichnet werden.

Ein „kleines" Microscop mit Vergröss. bis 400 zum Preise von 120—160 Mark pp.

Zeiss in Jena: Stativ VII[a], System: a, A. D. Oculare: 2. 4.

Hartnack in Potsdam: Stativ VIII, Systeme: 2. 4. 7. Oculare: 3. 4.

Seibert und Kraft in Wetzlar, Stativ V, Systeme: 1. 2. 5a. Oculare: 1. 2.

L. Bénèche, Berlin, Grossbeerenstr. 19, Stativ C., Systeme: 2. 4. 7. Oculare: 2. 3.

Schmidt und Haensch, Berlin, Stallschreiberstr. 4. Stativ: „Kleines Modell". Systeme: 1. 2. 4. Oculare: 0. 2.

R. Winkel, Göttingen, Stativ: 5. Systeme: 1. 3. 7. Oculare: 1. 3.

E. Leitz, Wetzlar, Stativ: „Mittleres Microscop". Systeme: 2. 4. 7. Oculare: 0. 2.

Kauft man zu diesen Instrumenten noch einen Abbé'schen oder dem ähnlichen Beleuchtungsapparat und eine Wasser- oder homogene Immersionslinse von $^1/_{12}$ oder $^1/_{18}$ (mit einem weiteren Aufwande von 150—400 Mk.), so ist das Instrument complet.

Es ist zu bemerken, dass Zeiss den Abbé'schen Apparat nicht zu dem oben angeführten Stativ VII [a], sondern nur zu den grösseren und theureren Stativen, von V [a] an, liefert. Die grösseren Stative haben sonst für unsre Zwecke nur wenig Vorzüge.

Die homogenen Immersionen haben einen viel höheren Preis, als die Wasserimmersionen.

Die Optiker Zeiss, Hartnack, Seibert und Kraft und Leitz liefern vorzügliche homogene Immersionen.

Weiterhin nennen wir als Microscopverfertiger von Ruf:

Reichert in Wien, Merz in München, Verik und Prazmowsky in Paris, Ross in London etc.

II. Sonstige Utensilien.

1. Beleuchtungslampe. Schusterkugel.

Zur Beleuchtung dient stets am besten das Tageslicht, besonders wenn man es von einer weissen Wolke, etwa in der Nähe der Sonne beziehen kann. Das directe Sonnenlicht kann nicht benutzt werden, indessen ist es immer am vortheilhaftesten, den Arbeitstisch an ein nach Süden gelegenes Fenster zu postiren. Wenn die Sonne scheint, wird ein Flügel durch einen weissen Vorhang abgeblendet, unter dessen Schatten man arbeitet; das Licht bezieht man entweder von dem Vorhang oder durch die freien Fensterflügel vom Himmel. Indessen unser an nebligen und trüben Tagen so reiches Klima nöthigt uns schon während der Tageszeit sehr oft, besonders für starke Vergrösserungen unsre Zuflucht zu künstlichen Lichtquellen zu nehmen. Wir benutzen hierzu einfach eine Gasflamme, einen Argand-Brenner, über den ein Cylinder von Marienglas und ein Schirm von steifem Papier kommt. Man benutzt das directe Licht der Flamme und corrigirt die gelbe Farbe derselben durch einen über das Ocular gelegten Ring, der ein planes blaues Glas trägt. Indem man mehrere solche Ringe mit verschiedener Intensität des Blau vorräthig hat, kann man die Correction für die verschiedenen Entfernungen, die man der Lampe giebt, einrichten. Der Brenner ist durch einen verschiebbaren Arm an einem Stativ befestigt, und steht nur etwa 20—30 Cmtr. über [illegible] des Tisches; wenn der Schirm etwa durch ein Drahtgestell

passend angebracht wird, so braucht man von der Hitze der Flamme wenig oder nichts zu spüren und dann ist das Arbeiten bei Gas nicht viel anstrengender als bei Tageslicht. Auch Petroleumlicht ist wohl zu gebrauchen, nur muss man darauf sehen, dass der Rundbrenner einen Durchmesser von mindestens 20 mm hat; auch die sogen. Duplexbrenner von entsprechender Breite sind gut zu verwerthen.

Sehr zu empfehlen ist die Anwendung einer „Schusterkugel", die mit einer Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd-Ammoniak gefüllt ist und zwischen Lampe und Spiegel eingeschaltet wird. Man setzt einer Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd einige Tropfen Ammoniak zu, bis eine schön blaue Färbung entsteht; beim weiteren Verdünnen dieser Lösung mit Wasser tritt meist eine Trübung ein, die durch weiteres Ammoniak wieder gelöst wird. Die passende Intensität der Farbe ist sehr leicht auszuprobiren; man erhält dann ein schönes weisses Licht, das in parallelen Strahlen auf den Spiegel fällt. Die Lichtquelle soll niedrig stehen und nur für das Microscop selbst verwendet werden; zum Präpariren etc. muss man sich anderweitige Beleuchtung schaffen.

2. Glasapparate.

Die Objectgläser sollen von weissem, möglichst fehlerfreien planen Glase angefertigt werden, von bestimmter, gleichmässiger Dicke und Format (am besten das englische); die Ränder abgeschliffen.

Die Deckgläschen sind ebenfalls von bestimmter, mittlerer Dicke, am besten etwa 0,15 mm; manche starke Objectivsysteme verlangen besonders dünne Deckgläschen. Von sonstigen Glassachen etc. werden gebraucht:

Uhrschälchen in grosser Zahl,
Glasstäbe,
Glasröhren, Capillaren etc.,
Glasschalen mit flachem Boden von verschiedener Grösse.
Glasglocken do.
Bechergläser, Spritzflaschen, Kolben, Reagenzgläser etc. ein Stativ mit Trichtern,
Masscylinder,
Platte von schwarzem Glas,
Platte von weissem Porzellan,

als Unterlagen zum Präpariren; für weisse, resp. ungefärbte Objecte dient die schwarze Platte, dagegen manipuliren wir mit gefärbten Präparaten stets auf der der weissen Unterlage.

3. Metallinstrumente.

Was die Metallinstrumente: Nadeln, Pincetten, Scheeren, Messer, Spatel etc. betrifft, so kann nicht dringend genug darauf aufmerksam gemacht werden, dass dieselben stets in absolut fehlerfreiem Zustande gehalten werden müssen. Wenn man manche ältere Microscopiker mit stumpfen, verrosteten Nadeln, mit Scheeren, die nicht schneiden, mit schlecht fassenden Pincetten etc., hantiren sieht, so darf uns dies nur als abschreckendes Beispiel dienen; unser Instrumentarium muss blank und schneidig wie das Operationsbesteck eines Oculisten gehalten werden.

Das Rasirmesser hat eine untere, plan geschliffene Fläche; auch hier kommt es selbstverständlich darauf an, dass die Klinge stets scharf und sauber gehalten wird. Trotz Doppelmesser und Microtom brauchen wir das Rasirmesser doch noch sehr häufig, besonders zur vorläufigen Orientirung. Man soll beim Schneiden mehr ziehen als drücken und die ganze Länge der Schneide vom Anfang bis Ende ausnützen.

In wenigen Wochen erlangt wohl Jeder die nothwendige Uebung, um mittelst des Rasirmessers sowohl von frischen, als von gehärteten Präparaten rasch und sicher einige gleichmässig dünne Schnitte abzunehmen; in vielen Fällen, in denen es auf absolut exacte oder extrem dünne Schnitte nicht ankommt, ist dieser Modus in seiner Einfachheit immer noch der beste.

Auch das Doppelmesser ist besonders für Untersuchung frischer Präparate vielfach im Gebrauch, man bekommt mit ihm auch von frischen, weichen Organen, grosse und gleichmässige Schnitte. Indessen opfert man dabei gewöhnlich das (macroscopische) Präparat; die Organe werden mit dem Doppelmesser oft in sehr unschöner Weise zerhackt. Das Doppelmesser wird in raschem Zuge durch das zu schneidende Organ hindurchgeführt; damit die Schneide dabei nicht anstösst und Schaden nimmt, ist es gerathen, eine weiche Unterlage, beispielsweise eine frische Leber etc., zu benutzen.

Die meisten Instrumentenmacher machen die Feder zwischen den zwei Branchen des Doppelmessers zu stark; oft habe ich es vortheilhaft gefunden, diese Feder ganz zu entfernen. Die Einstellung der Branchen geschieht so: zuerst wird die obere Schraube ganz zurückgedreht; dann durch die untere die beiden Branchen fest an einander gedrückt, endlich durch Vorschieben der oberen Schraube die Branchen wieder ein wenig von einander entfernt. Die Branchen sollen ungefähr parallel zu einander stehen.

4. Microtom.

Kein Microscopiker wird heut zu Tage ohne Microtom arbeiten wollen; noch vor zehn Jahren nur in wenigen Händen, haben die Microtome jetzt

eine ganz allgemeine Verbreitung gefunden und es ist sicher, dass damit ein sehr wesentlicher Fortschritt in der Technik gemacht worden ist.

Es wäre höchst ermüdend und ist wohl nicht erforderlich, die verschiedenen Constructionen der Microtome hier aufzuführen, überdies werden in jedem Jahre mehrere neue Constructionen resp. Modificationen ersonnen. Wir können fast alle Systeme benutzen; indessen würde ich diejenigen Modelle widerrathen, bei denen eine Einschmelzung des Präparates nothwendig ist. Gute Microtome werden angefertigt von:

Hrn. Dr. Long in Breslau,
Instrumentenmacher Katsch in München,
Mechaniker Schanze in Leipzig (pathol. Institut),
" Jung in Heidelberg,
" Meier in Strassburg

und verschiedenen Anderen. Der Vf. arbeitete lange mit dem Instrumente von Long, ist aber mit dem neuen Modell von Schanze so zufrieden, dass er dieses vorzüglich empfehlen möchte. Die Anwendung des Apparats ergiebt sich von selbst; das Messer wird in einem Schlitten geführt, das Präparat durch grobe Bewegung eines mit Kreistheilung versehenen Rades allmählich gehoben; durch Vorschieben des Messers wird dann eine der Hebung des Präparats entsprechend dicke Lamelle abgeschnitten.

Die Hebung des Präparats geschieht bei den Long'sehen Microtomen durch minimale Verschiebung eines Schlittens auf einer schiefen Ebene, bei den Instrumenten von Jung in sehr genauer Weise durch eine feine Micrometerschraube. Auch die Schlittenführung ist bei den Jung'schen Instrumenten ausserordentlich glatt.

Das zu schneidende Präparat wird in einer Klammer fixirt; man kann zu demselben Instrument verschieden grosse und verschieden gestaltete Klammern, die leicht gewechselt werden können, benutzen. Jedenfalls kommt es wesentlich darauf an, dass das Präparat ganz fest in der Klammer sitzt; sehr gebräuchlich ist es, das Präparat zwischen zwei Platten gut gehärteter Leber (am besten ist Amyloidleber geeignet, die in Alcohol gehärtet ist) einzuklemmen. Das gut gehärtete Präparat — eine feste, gleichmässige Consistenz ist eine nothwendige Vorbedingung für die Anfertigung guter Microtomschnitte — wird zwischen den zwei Leberplatten in die Klammer gebracht und mittelst der Schraube darin so fixirt, dass eine 1—2 mm hohe Schicht über die Klammer emporragt. Die Leberplatten wirken als Fixationsschienen, durch sie wird auch der über der Klammer befindliche Theil des Präparats genügend festgehalten. Jedenfalls muss die Fixation vollständig sein; sowie das Präparat der schneidenden Messerklinge auch nur ein wenig ausweichen kann, werden die Schnitte unvollständig und unsicher. Statt dessen kann man auch einen Kork in die Klammer fixiren, auf dessen oberer Fläche eine mehrere Millimeter dicke

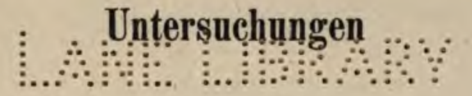




Microscopische Technik

zum Gebrauch bei

medicinischen und pathologisch-anatomischen Untersuchungen



von

Dr. Carl Friedlaender,
Privatdocent der pathologischen Anatomie zu Berlin.

Zweite vermehrte und verbesserte Auflage.

Mit einer Tafel in Chromolithographie.



BERLIN.
VERLAG VON THEODOR FISCHER's MED. BUCHHANDLUNG.
1884.

unbeschädigt übertragen werden. Man benutzt dazu am besten leicht gebogene, dünne Spatel, z. B. Streifen von Kupfer- oder Platinblech oder auch von vernickeltem Stahl, die vorsichtig unter den in der Flüssigkeit schwimmenden Schnitt gebracht werden; nur so kann ein feiner Schnitt ohne Faltungen heraus gehoben und in eine neue Flüssigkeit gebracht werden. Auch der Objectträger muss stets zuerst mit einer hohen Flüssigkeitschicht bedeckt sein, ehe der Schnitt auf ihn übertragen wird; der Schnitt muss ohne jede Gewalt, nur durch leichte Flüssigkeitsströmung von dem Spatelchen herabgleiten. Dann wird das Deckglas aufgelegt, und die in reichlichem Ueberschuss vorhandene Flüssigkeit durch eine Capillarröhre oder durch Fliesspapier abgesogen. Das Objectglas liegt hierbei auf einer schwarzen (bei ungefärbten Objecten) oder auf einer weissen Glasplatte (bei gefärbten Objecten); der Microscopiker behält also beide Hände frei. Den Objectträger beim Auflegen des Präparats in der Hand zu halten, ist eine ganz verkehrte Gewohnheit mancher Anfänger.

Um die für diese und andere Manipulationen nothwendige Feinheit der Fingerbewegungen zu ermöglichen, rathe ich, den Unterarm und event. auch den Ulnarrand der Mittelhand fest auf die Tischplatte zu stützen; mit frei gehaltenem Arme ist es sehr schwer, feine Schnitte gut zu montiren.

Die von Alkoholpräparaten hergestellten Schnitte werden aus dem Uhrschälchen mit Alkohol in destill. Wasser übertragen; unter lebhaften Bewegungen, die durch die Diffusionsströme bedingt sind, breiten sie sich hier sehr schön aus und verwandeln sich aus dem geschrumpften, runzeligen Zustande in durchsichtige Platten. Erst dadurch werden sie zur Untersuchung geeignet; sie werden auf dem Objectträger in destill. Wasser ausgebreitet, das dann in den meisten Fällen durch Glycerin vom Rande her verdrängt wird. In dem zähflüssigen Glycerin lassen sich feine grosse Schnitte weniger gut als in Wasser ausbreiten; kleinere Schnitte können auch direct in einen Tropfen Glycerin gebracht werden.

III. Reagentien. Microchemie.

Die Reagentien sind in Glasflaschen mit eingeschliffenen Glasstöpseln aufzubewahren. Während dieser Grundsatz in jedem chemischen Laboratorium, selbst in jeder Apotheke durchgeführt ist, sehen wir noch immer viele Microscopiker mit unsauber verkorkten Flaschen hantiren, was durchaus zu widerrathen ist. Für die fortwährend gebrauchten Reagentien ist sogar ein doppelter Verschluss am Platze; wir haben unser Glycerin, Essigsäure, destill. Wasser, Nelkenöl, Canadabalsamlösung etc. stets in sogen. Cobaltfläschchen, deren eingeschliffener Glasstöpsel nach unten in einen Glasstab sich verlängert, während über das Ganze ein hutförmiges Glasdach gedeckt wird. Schon der Anfänger soll durch diese absolut saubere, durchsichtige Art der Aufbewahrung seiner Reagentien

von vorn herein an die penibelste Sorgfalt bei der Arbeit gewöhnt werden.

Wir benutzen naturgemäss stets chemisch reine Präparate; nur bei gewissen Färbemitteln sind wir bis jetzt auf chemisch nicht controllirbare Substanzen angewiesen. Zur Erhaltung der Reinheit ist ausser der erwähnten Art der Aufbewahrung weiterhin noch erforderlich, dass wir nicht unsauber mit ihnen manipuliren; wer mit der Präparirnadel, mit dem Pinsel oder gar mit dem Finger in seine Reagentien hineinfährt, um etwa einen Tropfen herauszuholen, der wird niemals feinere Arbeiten, vor Allem niemals Untersuchungen auf Schizomyceten zu machen im Stande sein. Nur ein sorgfältig gereinigter Glasstab oder eine frisch geglühte Glasröhre darf mit dem Reagens in Berührung gebracht werden.

„Kunstproducte."

Die Anwendung der Reagentien ist von der höchsten Wichtigkeit bei histologischen Untersuchungen, viele Structurelemente sind nur mit Hilfe chemischer Einwirkungen zu studiren. Wir müssen selbstverständlich bestrebt sein, die Dinge in möglichst unverändertem, natürlichem, womöglich im lebenden Zustande zu untersuchen; indessen würde man sehr fehl gehen, wenn man alle die Structuren, welche nur durch bestimmte Reagentien sichtbar zu machen sind, als „Kunstproducte" a limine zurückweisen würde. An dem lebenden weissen Blutkörperchen sieht man gewöhnlich nichts von einem Kern, an der lebenden Cornea nichts von Zellen, weil die Differenzen im optischen Verhalten des Kerns gegen das Protoplasma, der Zelle gegen die Grundsubstanz zu minimal sind, um sichtbar zu werden, oder aber weil die einhüllende Substanz zu undurchsichtig ist, um die zarten Conturen des eingeschlossenen Körpers hindurch zu lassen. Mit dem eintretenden Tode werden dann diese Differenzen durch verschiedene chemische Veränderungen, Gerinnung etc., deutlicher, resp. die einhüllende Substanz wird durchsichtiger, und wir sind jedenfalls berechtigt anzunehmen, dass der Kern schon im lebenden weissen Blutkörperchen, die Zellen in der lebenden Cornea vorhanden sind, obgleich wir sie erst nach Eintritt der postmortalen Veränderung nachweisen können; ganz ebenso verhält es sich mit den Zellengrenzen bei vielen Epithelien, mit den Axencylindern in den Nervenfasern etc., die ebenfalls im lebenden Zustande unsichtbar, und trotzdem vorhanden sind. Ohnehin bekommen wir bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen die Gewebe fast nie im lebenden, natürlichen Zustande zu Gesicht, sondern immer in mehr oder minder vorgeschrittener cadaveröser Veränderung; wir müssen demnach stets daran denken, dass eine regelmässig gefundene Structur nicht nothwendig als solche schon intra vitam vorhanden war: jedenfalls aber deutet sie auf eine schon intra vitam vorhanden gewesene Differenzirung, die dann durch die cadaveröse Veränderung, resp. das von uns angewandte Reagens zum Ausdruck kommt.

Weiterhin, wenn innerhalb einer gewissen Zahl von ursprünglich anscheinend gleichartigen Elementen einige auf ein bestimmtes Reagens in besonderer Weise reagiren, andere dagegen nicht, wenn beispielsweise einige durch einen bestimmten Farbstoff gefärbt werden, andere farblos bleiben, so werden wir nothwendig auf eine präformirte Verschiedenheit der Elemente schliessen müssen.

Hierauf beruhen alle die z. Th. sehr complicirten Präparationsmethoden, die wir zur Darstellung der verschiedenen histologischen Elemente benutzen.

Es geht aus dieser einfachen Betrachtung hervor, wie wir uns zu den durch unsere Reagentien erzeugten microscopischen Bildern zu verhalten haben; wir dürfen uns durch das Schlagwort: „Kunstproduct“ nicht verblüffen lassen; in früheren Zeiten freilich sind viele wichtige histologische Entdeckungen anfänglich auf diese Weise discreditirt worden. Wir sind bei unsern microscopischen Untersuchungen meist nicht einfach als Beobachter thätig, sondern wir experimentiren, und unsere Befunde sind demnach zusammengesetzt aus den präformirten Bildungen einerseits und aus den von uns eingeführten Factoren andrerseits. Wer freilich von seinen Befunden, ohne Berücksichtigung dieser meist sehr einfachen Verhältnisse direct auf die präformirte Structur schliessen wollte, der würde stets den grössten Irrthümern ausgesetzt sein; z. B. eine scheinbare Faser kann entweder einer wirklichen präformirten Faser entsprechen, oder aber der Ausdruck einer Faltung sein, oder ein Gerinnungsproduct darstellen etc.

Speciell bei unsern pathologischen Untersuchungen benutzen wir die Reagentien noch nach einer andern Richtung hin. Wir haben nämlich oft genug die Aufgabe, nach bestimmten Elementen, Fremdkörpern, Parasiten etc. zu suchen; wenn wir nun wissen, dass diese gesuchten Elemente gewissen Reagentien und Behandlungsmethoden resistiren, während die übrigen Substanzen durch dieselbe Behandlung zerstört werden, so haben wir hierin eine vorzüglich brauchbare Untersuchungsmethode für unsern bestimmten Zweck, wenn auch die Structurverhältnisse des Organs dabei vollständig verloren gehen.

Aus alledem geht hervor, dass das Microscopiren, besonders wenn es sich um pathologische Dinge handelt, doch nicht immer als eine rein mechanische Thätigkeit angesehen werden darf, sondern oft genug eine gewisse Ueberlegung und Umsicht, schon bei der Wahl des modus procedendi, erfordert.

Microchemische Untersuchungen.

Microchemische Untersuchungen werden entweder so angestellt, dass das Präparat längere Zeit mit dem Reagens in Berührung

bleibt, z. B. in ein mit dem Reagens gefülltes Uhrschälchen gelegt und dann wieder zur microscopischen Untersuchung kommt, oder aber so, dass das Reagens auf das Präparat einwirkt, während wir es microscopisch beobachten. Zu diesem Zwecke wird das Reagens an den Rand des Deckglases gebracht und dringt allmählich gegen das Präparat vor; wir können diesen Process dadurch beschleunigen, dass wir am gegenüberliegenden Rande des Deckglases die Flüssigkeit mit Fliesspapier absaugen. Auf diese Weise kann man die Einwirkung des Reagens direct unter dem Microscop beobachten, z. B. die Auflösung der Protoplasmakörner, der rothen Blutkörper, des Kalks unter dem Einflusse von Säuren etc. Der Anfänger wird natürlich hierbei recht dringend darauf zu achten haben, dass das Reagens nicht etwa auf die obere Fläche des Deckglases kommt; es könnte dann sehr leicht die Objectivlinse des Microscops schädigen. Andere complicirtere Reactionen, besonders aber die meisten Färbungen werden gewöhnlich in Uhrschälchen vorgenommen; man vergleicht dann das Präparat nach der Einwirkung des Reagens mit einem Controlexemplar, oder aber man skizzirt dasselbe Präparat erst vor und dann nach der Behandlung.

Die hauptsächlich angewendeten Reagentien sind die folgenden:

1. Destillirtes Wasser.

Das destillirte Wasser enthält meist noch minimale Mengen von gelösten Substanzen und giebt, besonders im Sommer, einen ausreichenden Nährboden ab für verschiedene kleinste Organismen. Findet man daher in einem mit destillirtem Wasser behandelten Präparat Microorganismen, so beachte man diese Fehlerquelle; durch öfteres Aufkochen kann man sie leicht beseitigen.

Das destillirte Wasser tritt mit den meisten Bestandtheilen der frischen Gewebe sofort in einen sehr lebhaften Diffusionsprocess; dieselben werden dadurch sehr rasch mehr oder weniger intensiv alterirt; jedenfalls cessiren die vitalen Eigenschaften der in destillirtem Wasser isolirten Elemente des menschlichen Körpers sehr bald. Auch die aus der Leiche entnommenen, abgestorbenen zelligen Elemente werden wesentlich verändert; am augenfälligsten die rothen Blutkörper; sie quellen an, geben ihren Farbstoff ab und werden bald vollständig unsichtbar.

Hieraus ergeben sich die Art und die Grenzen der Anwendung des destillirten Wassers bei Untersuchung frischer Gewebe sofort; wir verwenden es mit Vorliebe da, wo es uns darauf ankommt, aus sehr blutreichen Substanzen die Blutkörperchen rasch für unsere Betrachtung zu eliminiren, die uns häufig durch ihre grosse Menge die übrigen Elemente in störender Weise verdecken. Wir werden dabei indessen nie vergessen,

dass auch das Gewebe selbst durch das destillirte Wasser event. wesentlich verändert werden kann.

Haben wir es mit Alkoholpräparaten zu thun, so bewirkt das destillirte Wasser lediglich eine Aufquellung und zwar meist in gleichförmiger Art, sodass ungefähr die ursprünglichen Grössenverhältnisse wieder hergestellt werden. Weitere Veränderungen werden durch das destillirte Wasser hier nur selten bewirkt, da die Hauptbestandtheile der Gewebe, die Eiweisskörper, coagulirt, d. h. in eine in destillirtem Wasser unlösliche Modification übergeführt worden sind. Jedenfalls muss man aber im Auge behalten, dass die in Wasser löslichen, diffusiblen Substanzen, z. B. das Glycogen, der Zucker, den Schnitten rasch entzogen werden.

2. Kochsalzlösung von 0,8 %. Indifferente Zusatzflüssigkeit.

Die verschiedensten Microorganismen entwickeln sich hier sehr bald in grosser Menge; die Flüssigkeiten müssen demnach sehr oft neu bereitet werden. Antimycotische Substanzen zuzusetzen, muss dringend widerrathen werden, da wir es dann nicht mehr mit reiner Kochsalzlösung zu thun haben; dagegen kann man die Lösung durch Kochen leicht sterilisiren.

Um das Protoplasma und die rothen Blutkörperchen möglichst intact zu erhalten, benutzt man eine Kochsalzlösung von 0,8 %, die gewöhnliche Zusatzflüssigkeit bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen, sowohl für frische Gewebsschnitte, als auch zur Verdünnung von Flüssigkeiten. Hat man ein besonderes Interesse daran, die Lebenseigenschaften der Zellen längere Zeit zu erhalten, so füge man zu 9 Theilen der Kochsalzlösung 1 Theil Hühnereiweiss (sogen. künstliches Serum) oder man benutze Humor aequeus, Hydrocelenflüssigkeit, Transsudate, Blutserum etc.

3. Alcohol absolutus (Härtung).

Wir benutzen stets möglichst reinen Alkohol, niemals den gewöhnlichen Spiritus, der ausser dem Wassergehalt stets noch mit andern Substanzen verunreinigt ist, oft sogar sauer reagirt. Falls wir verdünnten Alkohol anwenden wollen, so mischen wir den absoluten Alkohol mit der nöthigen Menge destillirten Wassers. Der mit zwei Theilen Wasser verdünnte Alkohol wird zuweilen als Hilfsmittel zur Isolirung von Gewebselementen angewendet (Ranvier); während die Zellen darin resistenzfähig werden, bleiben die Kittsubstanzen weich, sodass die Isolirung von Zellen, die vorher mit einander und mit der Intercellularsubstanz verschmolzen schienen, leicht gelingt. Man legt zu diesem Zwecke die frischen Gewebsstücke etwa 24 Stunden lang in den 33 %igen Alkohol.

Die Hauptanwendung findet aber der Alkohol zur Erhärtung der Gewebe, um denselben eine geeignete Schnittconsistenz zu geben. Die Er-

härtung in Alcohol geschieht wesentlich durch zwei Momente, nämlich durch die Entziehung des Wassers und durch die Gerinnung der Albuminate; sonst nimmt der Alcohol noch einige, für die morphologische Betrachtung unwichtige Extractivstoffe und Fett (in geringer Quantität) aus den Organstücken. Es geht hieraus sofort hervor, dass wir über den Fettgehalt der Gewebe, z. B. bei pathologischen Verfettungen, immer nur bei Untersuchung frischer Organe richtigen Aufschluss erlangen können, niemals an Alcoholpräparaten. Naturgemäss kommt durch Wasserentziehung eine Verkleinerung, Schrumpfung der Präparate zu Stande; sind die verschiedenen Theile des Präparats von ungleichem Wassergehalt, so wird auch die Schrumpfung ungleichmässig ausfallen und das Präparat wird in sehr unerwünschter Weise deformirt. Meist indessen bleibt die Form sehr gut erhalten und entsprechend der im Alcohol eingetretenen Verkleinerung des Präparats, quellen die Schnitte, wenn sie in destill. Wasser gelegt werden (durch Aufnahme von Wasser) wieder auf, sodass sie dann dem ursprünglichen Verhalten wieder sehr ähnlich werden. Den Hauptunterschied bildet die durch die körnig geronnenen Albuminate bedingte Undurchsichtigkeit der Schnitte, welche auch nach dem Aufquellen in Wasser zurückbleibt; gegen diesen Uebelstand verwenden wir dann meist das Glycerin (s. d.) als optisches Aufhellungsmittel oder aber Säuren und Alkalien, durch welche die gefällten Albuminate wieder gelöst, allerdings auch viele Structuren zerstört werden.

Die Härtung in Alcohol geschieht am besten so, dass kleine Organstücke in grosse Mengen des absoluten Alcohols eingebracht werden; man sehe darauf, dass das Organstück von allen Seiten her von dem Alcohol umgeben ist. So kann man ein etwa 2—3 Cubikcentimeter grosses Organstück binnen 24 Stunden vollständig durchhärten, kleinere Parthien noch viel schneller. Die früher oft geübte Methode, die Organe zuerst in schwachen, dann allmählich in immer stärkeren Alcohol einzulegen, ist mit Recht vollständig verlassen.

Der Alcohol ist für die meisten Gewebe*) das geeignetste Härtungsmittel; wir benutzen ihn fast ausschliesslich zu diesem Zweck. Besonders bei pathologisch-anatomischen Gegenständen liegt uns sehr daran, dass die durch die Präparationsmethode bedingten Veränderungen der Substanz einfache und leicht controllirbare seien; das trifft für den Alcohol zu, während die früher so gern angewendete Härtung in Chromsalzen je nach Zeit, Temperatur etc. verschiedene, sehr schwer zu controllirende Veränderungen, Trübungen, Verfärbungen etc. bewirkt. Einige kleine Kunstgriffe, die zuweilen nöthig werden, ergeben sich fast von selbst; z. B. pflegt der Bulbus in Alcohol sehr schnell zu schrumpfen; diesem Umstande kann man leicht

*) Wie schon erwähnt, ist die Alcoholhärtung für Untersuchungen auf Verfettung nicht geeignet.

dadurch abhelfen, dass man in den ersten Stunden mit einer Pravaz'schen Spritze Alcohol in den Glaskörper einspritzt, bis die pralle Rundung wiederhergestellt ist; event. muss diese Procedur wiederholt werden.

Manche Gewebe, namentlich die Lunge, Musculatur etc., erhalten selbst nach langem Aufenthalt im Alcohol keine geeignete Schnittconsistenz*); für diese Fälle ist es dann gerathen, das mangelhaft gehärtete Präparat für 24 Stunden in verdünnten Gummischleim einzulegen (mucilago gummi arab., und Glycerin, zu gleichen Theilen). Wird dann das mit Gummilösung durchtränkte Präparat wieder in Alcohol gebracht, so erhärtet es sehr gleichmässig und intensiv, da durch den Alcohol das Gummi ausgefällt wird. In Wasser wird dann das Gummi sehr bald aus den Schnitten wieder ausgezogen.

Nur für das centrale Nervensystem ist der Alcohol nicht sehr geeignet, am wenigsten für die weisse Substanz. Hier tritt durch den Alcohol keine genügende Härtung ein, entsprechend dem geringeren Wassergehalt; ausserdem zieht der Alcohol einen grossen Theil der fettigen Substanzen des Nervenmarks heraus, die dann wieder crystallinisch niederfallen; hierdurch wird das Gewebe sehr geschädigt. Für diese wichtigen Organe können wir bis jetzt die Chromsalze nicht entbehren.

4. Aether. Chloroform. (Entfettung.)

Beide Substanzen werden oft gebraucht, um die Fette zu entfernen. Natürlich wirken sie auf frische Organtheile nicht ein, da dieselben mit Wasser durchtränkt sind und Chloroform wie Aether sich mit Wasser nicht mischen. Die Organstücke, (Schnitte z. B.) müssen zuerst durch längere Behandlung mit Alcohol entwässert werden. Der Schnitt, der entfettet werden soll, kommt also zunächst für etwa 5 Minuten in ein Uhrschälchen, das mit absolutem Alcohol gefüllt ist, dann in ein Uhrschälchen mit Aether und Chloroform; tritt hierbei eine Trübung der Flüssigkeit ein, so ist das ein Zeichen, dass der Schnitt noch nicht genügend entwässert ist, also von neuem in absoluten Alcohol kommen muss. Ist er dann einige Minuten lang in Aether resp. Chloroform**) geblieben, sodass die darin löslichen Substanzen vollständig ausgezogen sind, so kommt der Schnitt wieder erst eine Zeit lang in Alcohol, dann in ein Uhrschälchen mit Wasser. Wir untersuchen den Schnitt entweder in Wasser, gewöhnlich aber muss wegen

---

*) Dasselbe gilt zuweilen für ältere Spirituspräparate, welche nachträglich gehärtet werden sollen.

**) In Chloroform werden die Schnitte sofort sehr durchsichtig; es rührt dies nicht etwa von der Lösung der Fette her, sondern ist ein einfach physikalisches Phänomen und wird bedingt durch den hohen Brechungsindex des Chloroform. In Alcohol zurückgebracht, zeigt der Schnitt sofort wieder seine frühere Undurchsichtigkeit.

der starken, durch die Coagulation der Albuminate bedingten Trübung Essigsäure (zur Wiederauflösung der Albuminate) zugesetzt werden. Der Gang, den wir zur Entfettung frischer Schnitte zu nehmen haben, ist also folgender:

Kochsalzlösung oder Wasser,
Alcohol,
Chloroform oder Aether,
Alcohol,
Wasser, dazu dann Essigsäure.

5. Säuren.

a. Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure.

(Entkalkung.)

Die starken Mineralsäuren haben in höheren Concentrationsgraden die Eigenschaft, die Eiweisskörper rasch zu coaguliren: sie können in Folge dessen zur Fixation gewisser, sehr zarter Structuren mit Vortheil benutzt werden. So z. B. für die sogen. Kernfiguren; nach Altmann*) ist es am besten, die Organstückchen für kurze Zeit, etwa eine Stunde, in Salpetersäure von 3 % (1,02 sp. Gew.) einzulegen, dann in destillirtem Wasser auswaschen und in absolutem Alcohol zu härten; Flemming und andere Autoren benutzen zu demselben Zweck auch stärkere Salpetersäurelösung.

In ganz verdünntem Zustande (etwa 1 : 1000) bewirken die Mineralsäuren wesentlich eine Aufquellung der meisten protoplasmatischen Substanzen, der contractilen und der leimgebenden Substanz etc., ähnlich der Essigsäure.

Sonst benutzen wir dieselben zum Entkalken. Um gute Schnitte durch verkalkte Partien, Knochen, Zähne; verkalkte Geschwülste etc. anzufertigen (die frühere Methode, feine Schliffe zu untersuchen, ist für unsre Zwecke nur noch wenig im Gebrauch), muss der Kalk entfernt werden; das geschieht am raschesten durch verdünnte Salz- oder Salpetersäure. Man wendet eine Säure von 0,5 % an, und löst dieselbe in kochsalzhaltigem Alcohol (v. Ebner), um die Quellung der Grundsubstanz zu vermeiden; also:

Salzsäure	5,0
Alcohol	1000,0
Aq. destill.	200,0
Chlornatrium	5,0

*) Altmann, Arch. f. Anat. und Physiol. 1881, S. 219.

Die Entkalkungsflüssigkeit muss oft gewechselt werden, giebt aber dann ganz ausgezeichnete Resultate. Etwas langsamer wirkt eine Chromsäurelösung (etwa 1 %), oder gesättigte Picrinsäurelösung (Ranvier).

Ausserdem kommen wir oft genug in die Lage, im microscopischen Präparat dunklere Einlagerungen zu finden, die uns den Verdacht erregen, dass wir es mit Kalk zu thun haben. Wir überzeugen uns davon, wenn wir sehen, dass durch zugesetzte Säure die dunkle Contur schwindet; in den meisten Fällen ist der Kalk an Kohlensäure gebunden, dann tritt bei Säurezusatz eine lebhafte Gasentwickelung ein, was unter dem Microscop ein sehr zierliches, frappantes Bild abgiebt. Wenden wir Schwefelsäure an, so wird schwefelsaurer Kalk, Gyps, gebildet, der schwer löslich ist und bald in schönen prismatischen Säulen, die sich oft büschelförmig an einander lagern, crystallisirt; die Gypscrystalle sind exquisit doppelbrechend, wir constatiren dies sofort mittelst eines über dem Ocular angebrachten Nicol'schen Prismas.

Manche Kittsubstanzen werden in starken Säuren gelöst; z. B. benutzt man 20procentige Salpetersäure zur Isolirung der glatten Muskelfasern (ebenso wie Kalilauge von 33 %). Zur Isolirung der Harncanälchen auf lange Strecken hin, behufs Feststellung ihres complicirten Verlaufs, benutzt man starke Salzsäure, event. mit leichter Erwärmung; für das Studium der Nephritis ist indessen diese Methode noch nicht zur Anwendung gekommen.

b. Essigsäure.

Die Anwendung der organischen Säuren, besonders der Essigsäure ist eine sehr gewöhnliche bei unsern Arbeiten; wir benutzen sie hauptsächlich zur Lösung resp. Aufquellung der Albuminate und der leimgebenden Substanz, aus welcher bekanntlich die Bindegewebsfibrillen bestehen. Da die Substanz der Kerne und das elastische Gewebe, die Fette, das Nervenmark etc. der Essigsäure resistirt, so ist diese ein sehr bequemes Mittel, um den innerhalb einer dunkelkörnigen Zelle verborgenen Kern und das im Bindegewebe, in der Muskelsubstanz etc. zerstreute elastische Gewebe deutlich zu machen. Auch die im Protoplasma, in der contractilen Substanz der Muskel etc. eingelagerten Fettkörnchen treten nach Essigsäurewirkung sehr viel deutlicher hervor; ebenso verhalten sich die in den Geweben vorhandenen Microorganismen. Schon in einer Verdünnung von 1:100 wirkt die Essigsäure in der beschriebenen Weise; selbst bei 1 : 1000 tritt die aufhellende Wirkung noch deutlich zu Tage, nur etwas langsamer.

Wenn wir einen Schnitt vom frischen Organ oder vom Alcoholpräparat in ein Uhrschälchen mit Essigsäure einbringeu, so wird er gewöhnlich ganz durchsichtig und quillt dabei stark an; meist geschieht dies in ungleich-

mässiger Weise, sodass der Schnitt eine grob-wellige Beschaffenheit annimmt; er wird auf diese Weise für die Untersuchung nahezu unbrauchbar. Wir thun daher besser, wenn wir die Essigsäure unter dem Deckglase auf die Schnitte einwirken lassen; ein kurzes Heben, Lüften des Deckglases reicht aus, um den an die Seite desselben gebrachten Tropfen Essigsäure eindringen zu lassen, während der leichte Druck des Deckglases genügt, um die Flächengestalt des Schnittes zu erhalten. Soll die Essigsäurewirkung prompt und energisch eintreten, so benutzen wir die unverdünnte Säure, den Eisessig; für die meisten Zwecke ist es indessen gerathen, denselben mit ein wenig destillirtem Wasser zu verdünnen.

In vielen Substanzen, welche mit alkalischen Eiweisslösungen durchtränkt sind, tritt durch die Essigsäure zuerst eine Trübung auf, bedingt durch die Neutralisation des Alkali; setzt man dann mehr Essigsäure zu, so hellt sich diese Trübung wieder auf. Indessen kann auch eine dauernde Trübung durch Essigsäure entstehen, die sich im Ueberschuss der Säure nicht löst; das Mucin wird nämlich durch Essigsäure gefällt. In Exsudaten, Cysteninhalt etc. finden sich oft gleichzeitig Fibrin, Serumeiweiss und Mucin; je nach den quantitativen Verhältnissen der Mischung wird dann die Wirkung der Essigsäure verschieden ausfallen. In den meisten Fällen werden die Substanzen durch die Essigsäure sehr stark aufgehellt, durchsichtig.

Bei der starken Quellung, welche die eiweisshaltigen und leimgebenden Körper durch die Essigsäure erleiden, ist es nicht wunderbar, dass die nach der Essigsäurewirkung hervortretenden Conturen, also die Grenzen der gegen die Säure resistenten Gebilde, nicht immer ganz unverändert bleiben. Schon in den vierziger Jahren machte Henle darauf aufmerksam, dass die mehrfachen Kerne, welche nach Essigsäurewirkung in den weissen Blutkörperchen, Eiterkörperchen etc. auftreten, nicht praeformirter Bildung seien; diese Körper enthielten vielmehr nur einen Kern, der durch die Wirkung der Säure in mehrere Stücke zersprengt werde. Für viele Fälle trifft dies in der That vollkommen zu; wenn wir auch jetzt wissen, dass ein Theil der lymphoiden Zellen schon im lebenden Zustande mehrere Kerne besitzt, so ist es doch dringend geboten, daran zu denken, dass die in einer Zelle nach Essigsäureeinwirkung auftretenden Kerne möglicherweise Kunstproducte, Sprengstücke eines ursprünglich einfachen Kernes darstellen können.

In bindegewebigen Substanzen wird durch die Essigsäure oft eine wesentliche Verschiebung der Structur bewirkt; z. B. sind die regelmässigen Längsreihen, in denen die Zellen der Sehnen, Fascien etc. angeordnet sind, nach der Aufquellung durch Säure gewöhnlich nicht zu constatiren, die Kerne liegen dann scheinbar regellos zerstreut. Ranvier benutzte die Vorsicht, eine kleine Sehne in gespanntem Zustande an den Enden durch Wachskügelchen auf dem Objectglase zu fixiren, sie einzudecken und

erst dann die Essigsäure langsam einwirken zu lassen; dann tritt die Quellung in weniger unregelmässiger Weise ein und die Längsreihen der Kerne werden deutlich. Es ist dem Anfänger dringend anzurathen, sich von diesen und ähnlichen Thatsachen durch eigenes Experimentiren zu überzeugen, damit er in die Lage kommt, zu beurtheilen, welche Veränderung der Structuren er durch seine verschiedenen Zusatzflüssigkeiten einführt.

Ameisensäure, Weinsäure sind weniger üblich; ihre Wirkung ist der Essigsäure ähnlich.

c. Picrinsäure.

Die Picrinsäure dagegen hat eine besondere Verwendung, nämlich als Härtungsmittel und als Färbesubstanz; die Albuminate werden in der gesättigten Lösung der Picrinsäure allmählich in die unlösliche Modification übergeführt, sodass die Gewebe fast ganz ohne Schrumpfung eine geeignete Schnittconsistenz erhalten. Dabei werden die meisten Substanzen gelb gefärbt, einige besonders intensiv, z. B. die glatten Muskeln, die verhornten Zellen der geschichteten Epithelien und der Epidermis etc. Diese charakteristische Färbung tritt auch an Schnitten, die von Alcoholpräparaten gemacht worden sind, sehr schön ein und zwar in kürzester Zeit, in wenigen Minuten; sie wird allerdings durch Wasser und Alcohol sehr rasch wieder ausgezogen. Wollen wir die Färbung conserviren, so muss dem Wasser, Alcohol, Glycerin etc. eine kleine Menge Picrinsäure zugesetzt werden.

d. Chromsäure.

Chromsaure Salze, Müller'sche Lösung.

In sehr starker Verdünnung ist die Chromsäure als Macerationsmittel im Gebrauch, etwa 1 : 10,000 und 1 : 20,000; legt man z. B. ein Stückchen Rückenmark für 24 Stunden in eine solche Lösung, so gelingt es dann sehr leicht, die Ganglienzellen mit ihren z. Th. vielfach verästelten Fortsätzen zu isoliren, indem die Kittsubstanz erweicht, resp. gelöst ist.

Wichtiger für unsre Zwecke ist die Wirkung der Chromsäure als Erhärtungsmittel; man wendet entweder die Säure in 0,2—1 procentiger Lösung, oder aber ihre Salze an.

Hauptsächlich in Gebrauch sind:

Kali bichromicum oder Ammonium bichromicum, in etwa 2 procentiger Lösung, Müller setzte der Lösung des dopp. chroms. Kali noch schwefels. Natron zu, diese Müller'sche Lösung:

Kali bichromicum	2,0
Natron sulfur.	1,0
Aq. dest.	100,0

ist als Erhärtungsmittel für das Nervensystem und den Bulbus vielfach in Gebrauch.

Die volle Erhärtung kommt sehr langsam, erst im Laufe von Wochen und Monaten zu Stande und zwar um so langsamer, je voluminöser die eingelegten Stücke sind, da das Chromsalz sehr allmählich in das Innere der Präparate eindringt; für eine Gehirnhemisphäre kann man ein halbes oder ein ganzes Jahr rechnen, dann aber erhalten sie eine sehr gute Consistenz. Man muss die Erhärtungsflüssigkeit öfter wechseln; um das Verschimmeln der Lösung zu verhindern, fügt man ein Stückchen Kampfer zu (Klebs). Nach Weigert geht die Härtung viel schneller vor sich, wenn man die Härtung im Brutofen bei 30—40° C. vornimmt. Erlitzki giebt eine Flüssigkeit an, die aus $2^1/_2$ % Kali bichromicum und $^1/_2$ % Cuprum sulfuricum besteht; in dieser kommt die Härtung schon in der Zimmertemperatur sehr rasch, in 8—10 Tagen, zu Stande.

Nachher kommen die Präparate in Alcohol, der event. ein wenig verdünnt werden kann.

Das Centralnervensystem nimmt danach eine sehr gleichmässige derbe Schnittconsistenz an; dabei zeigt dasselbe bestimmte charakteristische Farbendifferenzen schon für das blosse Auge. Die graue Substanz setzt sich von der weissen durch eine hellere Färbung ab, während die letztere dunkelgrün wird; die gewöhnliche Form der grauen Degeneration oder Sclerose in den weissen Strängen zeigt einen dunkelbräunlichen Ton, während die meisten secundären Degenerationen eine hellere Färbung als die normalen Stränge annehmen und zwar auch in solchen Fällen, welche in frischem Zustande eine Farbendifferenz zwischen normalen und degenerirten Parthien durchaus nicht zeigten.

Für andere Organe ist die früher sehr beliebte Härtung in den Lösungen der Chromsäure resp. der Chromsalze nur in vereinzelten Ausnahmefällen zu empfehlen; wir ziehen, abgesehen vom Nervensystem und dem Bulbus, die Härtung durch Alcohol, event. mit Hilfe von Imbibition mit Gummischleim, weitaus vor. Durch die Chromsalze kommen oft genug fädige oder netzförmige Gerinnungen zu Stande, die dann irrthümlich für praeformirte Bildungen angesehen werden können; weiterhin sind auch die durch ihre Einwirkung entstehenden, dunkelkörnigen Niederschläge in den Zellen und Zwischensubstanzen oft sehr störend und durch chemische Mittel nur sehr schwer aufzuhellen. Kalkeinlagerungen werden durch die Chromsäure und die doppelt-chromsauren Salze allmählich aufgelöst und können so der Beobachtung entzogen werden. Microchemische Reactionen sind an den mit Chromsalzen behandelten Präparaten überhaupt fast gar nicht mehr anzustellen; aus diesen und anderen Gründen empfehlen wir die Chromsalze als Härtungsmittel nur da, wo der Alcohol wegen der besondern chemischen Constitution nicht günstig einwirkt, also wesentlich nur beim Nervensystem oder etwa bei sehr stark verfetteten Organen; stets wird

dabei eine Controlle der Resultate an frisch untersuchten resp. Alcoholpräparaten wünschenswerth bleiben (z. B. wegen etwaiger Verkalkungen, welche durch die Chromsäure und deren saure Salze leicht vollständig gelöst werden können und so der Beobachtung sich entziehen).

Das einfach chromsaure Ammoniak wurde in 5procentiger Lösung von Heidenhain mit grossem Vortheil für die normalen Nieren verwendet und zwar besonders zur Demonstration der Stäbchenstructur an den Epithelien der Harncanälchen. Das Mittel dürfte auch für pathologisch-anatomische Untersuchungen zu empfehlen sein.

6. Alkalien. Kali- und Natronlauge. Ammoniak.

Die Alkalien bewirken eine Auflösung resp. Aufquellung der Albuminate, der leimgebenden Substanz, der contractilen Substanz der glatten und quergestreiften Muskeln und der Kerne; selbst die Hornsubstanz wird durch dieselben vollkommen durchsichtig.

Es resistiren von Gewebebestandtheilen wesentlich nur:

1. Das elastische Gewebe,
2. Die Fette (auch das Nervenmark),
3. Kalk, Pigment etc.,
4. Die amyloide Substanz, ausserdem auch Chitin (Haken von Tänien, Echinococcen) Cellulose, Pilzfäden, Sporen und Schizomyceten. Hieraus wird sofort der vielfältige Gebrauch der Alkalien für unsre Zwecke klar; wo es sich darum handelt, die zuletzt aufgeführten Substanzen zu suchen, da treten die Alkalien ein. Allerdings wird die Gewebsstructur dabei nahezu vollständig ruinirt; während wir uns an einem durch Essigsäure ad maximum aufgehellten Schnitt durch die restirenden Kerne stets noch ziemlich gut orientiren können, fällt hier alles derartige weg, nur an dem elastischen Gewebe, den homogenen Membranen haben wir noch Anhaltspunkte.

Wir benutzen für die meisten Zwecke am besten eine Kali- oder Natronlauge von 1—3 %; schon in dieser Verdünnung tritt die aufhellende Wirkung sofort ein. Eine besondere Wirkung kommt dann der concentrirten 33procentigen Lauge zu; in dieser erhalten sich die meisten Elemente, während die Kittsubstanz gelöst wird. Namentlich für glatte und quergestreifte Muskelfasern trifft dies zu; legt man z. B. ein Stückchen eines Uterusmyoms für einige Minuten in ein Uhrschälchen mit 33 procentiger Kalilauge, so zerfällt dasselbe unter der Nadel fast von selbst in die einzelnen Faserzellen: man hat dabei nur darauf zu achten, dass die Lauge nicht verdünnt wird, denn dann löst sich auch die Faser selbst sofort auf; das Präparat muss also direct in der 33procentigen Lauge untersucht werden. Auch rothe Blutkörperchen conserviren ihre Form in

der 33 procentigen Lauge, während sie in verdünnten Lösungen sofort verschwinden.

Nach einer Beobachtung Virchow's sind schwache Lösungen der Alkalien im Stande, die Bewegungen von Flimmerzellen wieder anzuregen, die bereits vorher bewegungslos, scheinbar abgestorben waren.

7. Glycerin.

(Das Glycerin muss vor Allem frei von saurer Reaction sein; ein geringerer Wassergehalt stört weniger. Wir verwenden es meist in reiner Form; mit Wasser verdünntes Glycerin pflegt leicht zu schimmeln.)

Das Glycerin ist von ganz eminentem Werthe für die histologische Untersuchung von Organen, die in Alcohol und andern das Eiweiss coagulirenden Substanzen — Picrinsäure, Chromsäure und deren Salze etc. — gehärtet sind. Hierbei sind dann nothwendig starke Trübungen in den Geweben entstanden; wenden wir Säuren oder Alkalien an, um die durch das Härtungsmittel niedergeschlagenen Eiweisskörnchen zu lösen, so zerstören wir zugleich viele andere Structuren, so die Bindegewebsfasern, das Fibrin, die Blutkörperchen.

Deshalb benutzen wir für diese Fälle als Aufhellungsmittel das Glycerin. Dieses übt seinen aufhellenden Einfluss nicht durch chemische Lösung resp. Quellung der Eiweisskörner (nur das Fett wird allmählich im Glycerin gelöst), sondern vielmehr lediglich durch ein physikalisches Moment, durch sein hohes Lichtbrechungsvermögen. Wir können uns diese Wirkung sofort anschaulich machen, wenn wir die Contur eines Glasstabes der in Wasser getaucht wird, mit der eines Glasstabes in Glycerin vergleichen; die letztere ist eminent viel zarter. Oder wenn wir ein Stück Filtrirpapier mit Wasser, ein anderes mit Glycerin durchtränken; das letztere wird viel durchsichtiger. Die Conturen eines mit Glycerin getränkten Gewebsstückes werden also sämmtlich viel zarter; daher ist das Glycerin bei der Untersuchung frischer Gewebe, deren Elemente ohnehin schon sehr zarte Conturen haben, für die meisten Fälle unbrauchbar, da die Conturen dann fast ganz unsichtbar werden. Dagegen ist der Grad der durch das Glycerin bewirkten Aufhellung besonders für Alcoholpräparate gerade passend; man kann sagen, dass erst nach der Einführung des Glycerins in die microscopische Technik die Untersuchung der in Alcohol gehärteten Organe zu ihrer vollen Fruchtbarkeit entwickelt worden ist.

Das Glycerin mischt sich mit Wasser, sowie mit Alcohol, Essigsäure etc. in jedem Verhältniss, allerdings entsprechend seiner syrupösen Consistenz ziemlich langsam; wollen wir also eine chemische Reaction recht schnell eintreten lassen, z. B. die Wirkung von Jod, oder einer Säure constatiren, so ist ein Glycerinpräparat dazu weniger geeignet. Jedenfalls

ist das Glycerin aus dem Präparat sehr leicht zu entfernen, einfach indem wir dasselbe in ein Uhrschälchen mit Wasser legen.

Das Glycerin hat ausserdem bekanntlich die Eigenschaft, dass es an der Luft weder verdunstet, noch sonstige chemische Veränderungen eingeht; höchstens nimmt es unter Umständen aus feuchter Luft etwas Wasser auf. Diese Eigenschaft macht das Glycerin zu einem vorzüglichen Conservirungsmittel für microscopische Präparate; will man ein in Wasser oder einer wässrigen Lösung befindliches Präparat conserviren, so braucht man nur einen Tropfen Glycerin an den Rand des Deckgläschens zu bringen; nach Maassgabe der Verdunstung des Wassers dringt das Glycerin ein. Auch frische Präparate kann man auf diese Weise conserviren; wenn man später das Glycerin durch Wasser oder Kochsalzlösung verdrängt, so ist der ursprüngliche Zustand wieder hergestellt.

Die dunkle Conturirung, der Glanz der elastischen Fasern und Platten wird im Glycerin nur wenig verringert, da ihr Lichtbrechungsvermögen noch erheblich höher steht; dagegen geht der eigenthümliche Glanz, den die amyloide Substanz, das von Recklinghausen sogenannte Hyalin und andere colloide Stoffe bei Untersuchung in wässrigen Flüssigkeiten darbieten, im Glycerin zum grossen Theile verloren, da ihr Brechungsvermögen sich nur sehr wenig von dem des Glycerins unterscheidet. Bei genauer Untersuchung ist der Unterschied in den meisten Fällen zwar noch einigermaassen deutlich; immerhin thut man gut, wenn man auf diese Dinge vigilirt, die Präparate erst in Wasser zu betrachten. Dass kleine Fetttröpfchen in Glycerin vollständig unsichtbar werden, ist bereits bemerkt worden; man darf natürlich zur Untersuchung auf Verfettung niemals Glycerinpräparate benutzen.

8. Kali aceticum.

Eine gesättigte Lösung von Kali aceticum (von Max Schultze empfohlen) kann ebenfalls als Conservirungsflüssigkeit verwendet werden; auch diese Flüssigkeit ist der Verdunstung nicht ausgesetzt, luftbeständig. Eine aufhellende Wirkung kommt derselben nur in geringem Grade zu, wir werden sie daher besonders zur Conservirung frischer, nicht gehärteter Objecte verwenden. Besonders zur Conservirung von Verfettungen ist diese Methode ziemlich brauchbar; freilich verlieren die Conturen der Fettropfen mit der Zeit ihre ursprüngliche Schärfe.

9. Nelkenöl, Canadabalsam.

Wünschen wir an den Präparaten eine noch weitergehende Aufhellung (besonders nach vorangegangener intensiver Färbung), so verwenden wir Terpentinöl, oder, was viel empfehlenswerther ist, Nelkenöl; ähnlich

wirken andere ätherische Oele, Cedern-, Origanum-, Zimmet-, Bergamott-, Anis-Oel etc., sowie das Xylol und Phenol (Creosot). Jeder möge sich die für seine Geruchsorgane am wenigsten unangenehme Substanz aussuchen. Alle diese Flüssigkeiten sind mit Wasser gar nicht oder nur sehr wenig mischbar, die aufzuhellenden Schnitte werden demnach zuerst durch Alcohol entwässert; es genügt, sie für einige Minuten in ein Uhrschälchen mit Alcohol zu bringen, dann durchtränken sie sich sofort mit Nelkenöl etc. Der Schnitt erhält dabei eine maximale Transparenz; das Lichtbrechungsvermögen der genannten Flüssigkeiten ist ein sehr hohes, viel höher, als das des Glycerins, nahezu dasselbe, wie das des Glases Auch die härtesten Conturen der menschlichen und thierischen Elementartheile gehen bei dieser Behandlung fast vollständig verloren; an ungefärbten Präparaten sehen wir gewöhnlich fast gar nichts mehr; auch die elastischen Fasern sind nur noch mit Mühe zu erkennen, besonders wenn die offene Beleuchtung mittelst des Condensor (Abbé-Koch) hinzugefügt wird; um so deutlicher treten die gefärbten Partien zu Tage. Wir müssen demnach bei einem derartigen Modus der Untersuchung stets im Auge behalten, dass wir den grössten Theil der Structuren absichtlich unsrer Untersuchung entzogen haben.

So vorbereitete Präparate können dann sofort in harzigen Einschlussmassen für die Dauer conservirt werden; wir benutzen meist Canadabalsam, in gleichen Theilen Chloroform oder Xylol gelöst (auch Mastix in Chloroform ist im Gebrauch, ebenso Dammarharz etc.). Das Nelkenöl wird durch feines Fliesspapier abgesaugt, an dessen Stelle dringt der Canadabalsam, der an die Seite des Deckglases gebracht wird, allmählich ein.

Reagentien zum Färbungsverfahren.

Grundsätze der Färbetechnik.

Die Technik der Färbung ist von Jahr zu Jahr wichtiger und für unsre Zwecke unentbehrlicher geworden; besonders durchschlagend waren die Erfolge der Färbungen bei der Entdeckung pflanzlicher Parasiten. Weigert, P. Ehrlich und Koch haben sich nach dieser Richtung hin die hauptsächlichsten Verdienste erworben; die sehr dankenswerthen Studien Ehrlich's beziehen sich wesentlich auf die Theorie der Farbestoffwirkungen.

Es handelt sich bei den Färbungen darum, dass bestimmte Bestandtheile der Gewebe und selbst der Zellen einen Farbstoff aus der angewendeten Lösung mit grosser Energie resp. in grosser Quantität an sich ziehen und mit demselben eine intensiv gefärbte Verbindung von grösserer

oder geringerer Festigkeit bilden. Die Verwandtschaft der verschiedenen Substanzen des menschlichen Körpers zu den verschiedenen Farbstoffen ist nun natürlich eine höchst mannigfaltige und wir haben allmählich fast für jeden Gewebsbestandtheil einen besonderen Farbstoff, resp. eine eigene Färbungsmethode kennen gelernt, durch welche derselbe eine specifische, intensive Färbung, im Gegensatz zu den übrigen Gewebsbestandtheilen, annimmt. Somit erhält die Färbung in vielen Fällen den Werth einer chemischen Reaction, durch welche wir eine bestimmte Substanz, welche mitten unter vielen anderen Massen versteckt liegt, auf leichte und bequeme Weise hervorheben können. Diese „elective“ Wirkung der Farbstoffe ist für die pathologische Untersuchung, wie sofort in die Augen springt, von ganz eminenter Bedeutung; Elemente, die nur bei sehr sorgfältiger Untersuchung innerhalb des Gewirres der übrigen Structuren sich durch ihre zarten Conturen zu erkennen geben, treten nach der isolirten Färbung sofort selbst für die flüchtige Betrachtung, oft schon bei schwacher Vergrösserung hervor, so dass die bei dem Färbungsverfahren aufgewendete Zeit sehr bald durch die erreichte Bequemlichkeit und Sicherheit der Untersuchung wieder eingebracht wird.

In vielen Fällen giebt uns das Färbungsverfahren allein Aufschluss über vorhandene Differenzen in solchen Gewebs- und Zellenbestandtheilen, die vorher vollkommen gleichförmig erschienen waren.

Dass die vollständige Ausnutzung der Resultate der Färbungen erst durch die Anwendung des offenen Condensors resp. des Abbé'schen Beleuchtungsapparats gewonnen wird, ist schon oben erläutert worden.

Die Manipulation des Färbens geschieht in den meisten Fällen so, dass ein Schnitt aus dem destillirten Wasser in das mit der Farblösung erfüllte Schälchen eingetragen wird, so dass er überall von der Farblösung umgeben ist; er bleibt darin verschieden lange Zeit, einige Minuten bis 24 Stunden, wird dann wieder in destillirtes Wasser gebracht, um die äusserlich anhängenden Theile der Farblösung abzuspülen, und dann entweder direct in Glycerin oder, nach der Entwässerung durch Alcohol, in Nelkenöl untersucht.

Die Wirkung des Färbungsverfahrens ist hier einfach die, dass gewisse Elemente den Farbstoff annehmen, andere Elemente ungefärbt bleiben (Election).

In vielen Fällen wird aber der aus der Farblösung entfernte, abgewaschene Schnitt noch weiteren Proceduren unterworfen; er wird wieder entfärbt, d. h. partiell entfärbt. Hier ist nämlich zunächst eine vollständig diffuse, gleichmässige, also unbrauchbare Färbung eingetreten; aber während gewisse Elemente bei dem nachträglichen Extractionsverfahren den Farbstoff vollständig wieder abgeben, halten ihn andere, mit stärkerer Affinität begabte Elemente fest (Princip der maximalen Entfärbung,

Ehrlich). Dieses wohl zuerst vom Vf. angewendete Verfahren spielt jetzt besonders bei den Färbungen mit Anilinstoffen eine grosse Rolle, als Extractionsmittel dient gewöhnlich Alcohol, event. auch Säuren.

Die Färbung eines Schnittes unter dem Deckglase vorzunehmen, ist nur in den wenigsten Fällen zu rathen; die Färbung fällt meist zu ungleichmässig aus, beschränkt sich auf die Randpartien etc. In Flüssigkeiten isolirte Elemente, Zellen etc. können zuweilen unter dem Deckglase gefärbt werden; indessen ist auch für diesen Fall die von Koch und Ehrlich geübte Färbung des Trockenpräparats gewöhnlich weitaus vorzuziehen. (Vgl. den Abschnitt: Untersuchung von Flüssigkeiten.)

Bei embryologischen und zoologischen Untersuchungen ist seit längerer Zeit die Methode im Gebrauch, die Organe, resp. Thiere in toto zu färben; insbesondere hat man alcoholische Färbeflüssigkeiten zusammengesetzt, welche zu gleicher Zeit mit der Härtung auch die Färbung der Präparate besorgen. Man hat dann den Vortheil, dass der Schnitt fast direct von dem Microtom auf den Objectträger zur Untersuchung gebracht werden kann; abgesehen von der Kürze und Bequemlichkeit des Verfahrens läuft man bei demselben auch viel weniger die Gefahr, den Schnitt bei den verschiedenen Manipulationen des Färbens, Abspülens etc. zu schädigen resp. zu verderben. Indessen halte ich doch diese Methode für unsre Zwecke nur selten für geeignet; wir haben in vielen, ja in den meisten Fällen zunächst die Aufgabe, ein bestimmtes Urtheil über einen concreten practischen Fall abzugeben und müssen demnach uns stets die Möglichkeit wahren, die betreffenden Präparate nach möglichst vielen Richtungen hin zu prüfen. Wir würden gleichsam mit gebundener Marschroute arbeiten, wenn wir die Methode der Normal-Anatomie urtheilslos übernehmen wollten; die Verhältnisse sind total andere. Der Normal-Anatom untersucht z. B. beliebig viele Bulbi zur Entscheidung einer wissenschaftlichen Frage; ein jeder normale Bulbus ist ihm dafür gleichwerthig, zu jeder Variation der Methode kann er ein neues Exemplar benutzen. Wir dagegen sind oft auf das eine vorliegende Exemplar beschränkt, an diesem haben wir die eingetretenen Structurveränderungen zu constatiren. Zu diesem Zwecke müssen wir uns bemühen, aus dem möglichst wenig veränderten Präparat (event. durch Frieren, Alcoholhärtung etc.) eine Reihe von Schnitten der veränderten Partien zu gewinnen, die wir dann als etwa gleichwerthige Exemplare betrachten können; dann haben wir die Möglichkeit, diese Schnitte nach verschiedenen Methoden zu behandeln, mit ihnen zu experimentiren, um die Veränderungen nach allen Richtungen hin zu studiren. Wir können niemals wissen, auf welche Ueberraschungen wir in der Tiefe der pathologisch veränderten Organe stossen, desshalb ist die einfache, möglichst wenig eingreifende Vorbereitung der Präparate bis zu ihrer Zerlegung für uns das Beste.

Unmöglich können wir uns schon vor Beginn der Untersuchung an eine bestimmte Methode binden, sondern müssen uns die Möglichkeit erhalten, je nach dem Ergebniss der Untersuchung, welches wir von vornherein noch nicht kennen, die weiteren, sich als nothwendig ergebenden Wege einzuschlagen.

Wir werden deshalb die Technik der Färbung der Organe in toto hier nicht besprechen; wer sie anzuwenden wünscht, findet die nothwendigen Fingerzeige bei Grenacher, Arch. f. micr. Anat. Bd. 16, und P. Meyer, Mittheilungen aus der zool. Station zu Neapel, Bd. 2, 1880.

10. Jod.

Diese älteste der Färbesubstanzen, welche für microscopische Untersuchungen zur Anwendung gekommen sind, wird auch heute noch sehr häufig benutzt und zwar gewöhnlich in der Form der Lugol'schen Lösung; das Jodmetall, in reinem Wasser unlöslich, wird in einer Jodkaliumlösung leicht gelöst. Man benutze:

Jod. pur.	1,0
Kal. jod.	2,0
Aq. destill.	50,0

diese Lösung kann nach Bedarf beliebig verdünnt werden.

Es ist zu bemerken, dass die Jodfärbungen sich in Wasser und Glycerin nur schwer und nicht auf lange Zeit conserviren lassen; das Jod ist immer nur locker mit den organischen Substanzen verbunden und verdunstet allmählich, wobei dann die Färbung erlischt. Selbst bei sorgfältiger Verkittung der Präparate pflegt die Färbung spätestens nach einigen Jahren verloren zu gehen. In Canadabalsam sind sie gar nicht zu conserviren, da die Jodfärbung durch den Alcohol sofort extrahirt wird. Dagegen scheint die Jodfärbung in Präparaten, welche in dicker Gummilösung liegen, gut erhalten zu bleiben.

Durch die Jodlösung werden die eiweissartigen Substanzen leicht gelb gefärbt, ebenso die leimgebenden und colloiden; gewöhnlich werden die Zellen stärker gefärbt als die Zwischensubstanz und die Kerne etwas stärker als die Protoplasma. Man kann demnach durch eine sehr schnelle und bequeme Färbung an frischen Schnitten die zelligen Elemente hervorheben, z. B. die Zellstränge in Carcinomen etc.

Die rothen Blutkörper werden durch die Jodfärbung dunkelbraun gefärbt.

Eine besondere Reaction erhalten wir von der Jodlösung hauptsächlich bei folgenden Substanzen:

Glycogen,
Corpora amylacea,
Amyloid.

Glycogen.

In vielen Knorpelzellen, z. B. denen der Chorda dorsalis, der Wucherungsschicht der Epiphysenkorpel schon im Normalzustande, ganz besonders reichlich aber bei der Rachitis, sowie in Enchondromen, erhält man eine intensiv weinrothe Färbung mit der Jodlösung, die ganze Zellsubstanz oder nur einen Theil derselben betreffend. Die Reaction tritt am besten bei recht blasser Färbung der übrigen Substanz hervor.

Die Rothfärbung beruht auf dem Gehalt der Zellen an Glycogen, wie Neumann und Jaffé nachgewiesen haben; ohne Jodfärbung zeigen die glycogenreichen Partien oft eine homogen glänzende Beschaffenheit. Dasselbe Verhalten kennt man nach einer Entdeckung von Cl. Bernard schon sehr lange von den Zellen der Chorionzotten und anderen embryonalen Gebilden. An den Leberzellen haben Bock und Hofmann den wechselnden Glycogengehalt ebenfalls durch Jodfärbung studirt; im normalen geschichteten Plattenepithel, sowie in üppig wuchernden Carcinomen fand Schiele, ein Schüler von Langhans, ebenfalls reichlich Glycogen.

In neuerer Zeit fand Ehrlich, dass ein grosser Theil des Glycogens bei dem Aufenthalt der Schnitte in wässrigen Lösungen (in Alcohol ist das Glycogen bekanntlich unlöslich) aus den Zellen ausgezogen wird und in Folge dessen der Beobachtung entgeht; er wendet deshalb, um die Lösung, resp. Diffusion des Glycogens zu vermeiden, eine mit Mucilago gummi arabici versetzte dünne Jodlösung an, in welcher dann die Präparate direct untersucht und conservirt werden. Ehrlich fand bei Anwendung dieser Methode, dass bei Diabetes regelmässig grosse Mengen von Glycogen in den Epithelzellen der Harncanälchen der Niere, und zwar besonders in der Grenzschicht zwischen Rinde und Mark vorkommen.

Corpora amylacea.

Bekanntlich werden Amylumkörner durch Jod intensiv blau gefärbt; sie kommen im Magen- und Darminhalt und in der Mundhöhle häufig vor und werden an der Jod-Reaction sicher erkannt; ausserdem findet man sie nicht selten als zufällige Verunreinigungen. Eine gewisse, indessen rein äusserliche Aehnlichkeit mit Amylumkörnern haben die sogen. corpora amylacea, die im Nervensystem bei degenerativen Processen und bei älteren Individuen in der weissen Substanz des Gehirns und Rückenmarks fast regelmässig gefunden werden; sie sind als Degerationsproducte der Markscheide anzusehen. Mit Jod nehmen sie eine intensiv weinrothe Färbung an. Weiterhin bezeichnet man auch als corpora amylacea gewisse Concretionen, die zuweilen in der Lunge und sehr häufig in der Prostata gefunden werden. Alle diese wasserhellen oder gelbbräunlichen Körper

werden charakterisirt durch eine concentrische Schichtung und durch eine mehr oder weniger intensive Färbung mit Jod; der Farbenton varirt von weinroth bis braunschwarz. Ueber ihre Natur und Bedeutung ist wenig bekannt, mit Amylum haben sie nichts zu thun, ebensowenig mit Amyloid.

Amyloid.

Die amyloide Substanz ist durch ihre weinrothe Färbung mit Jod charakterisirt; auch hier benutzt man am besten ganz schwache Lösungen von Cognacfarbe, um die Reaction im Verlaufe einiger Minuten allmählich, aber desto schöner und reiner eintreten zu lassen. In vielen Fällen von Amyloiddegeneration verändert sich die Farbe bei Zusatz von Schwefelsäure in einen dunkelgrünen bis blauen Farbenton; man legt die mit Jod nicht zu stark, nur hellgelb, gefärbten Schnitte in ein Schälchen mit 1 procentiger Schwefelsäure und sieht die Reaction entweder sofort oder nach einigen Minuten eintreten. Wie erwähnt, tritt diese Blau- resp. Grünfärbung — durch welche die degenerirten Partien viel intensiver von ihrer Umgebung abgehoben werden, als durch die einfache Jodfärbung — nicht in allen Fällen von Amyloiddegeneration ein; in vielen Fällen verändert die Schwefelsäure den Farbenton gar nicht, sondern bewirkt nur eine etwas gesättigtere Braunrothfärbung. Weiterhin findet man in vielen Fällen von Amyloid, dass einige der degenerirten Elemente mit Jod und Schwefelsäure grün resp. blau werden, während andere lediglich dunkelrothe Färbung annehmen; in mehreren mir vorliegenden Fällen wurden z. B. die Arterien und Vasa afferentia der Niere dunkelroth, die Glomerusschlingen dagegen tiefblau. Dieses durch seine Regelmässigkeit äusserst frappante Farbenbild kommt, wie es scheint, nicht sehr häufig zur Beobachtung; dagegen findet man oft z. B. an amyloiden Arterien grösstentheils rothe Färbung, nur einige eingesprengte Parthien blau gefärbt. Möglicherweise hängen diese Färbungsdifferenzen mit Alterszuständen des Amyloid zusammen, indem die jüngeren Stellen mit Jod und Schwefelsäure roth, die älteren blau gefärbt werden; so sah ich an der Milz mehrmals die Arterien und Capillaren der stark vergrösserten Follikel blau werden, während die Gefässe der weniger stark — also präsumtiv jünger — erkrankten Pulpa roth gefärbt waren. Anderweitige Differenzen dieser beiden verschiedenen Arten des Amyloid sind bisher nicht zu eruiren; sowohl ohne Färbung als bei der Tinction mit Anilinfarben findet man nur eine gleichmässige Beschaffenheit, da wo die Behandlung mit Jod-Schwefelsäure die brillante Farbendifferenz zu Tage treten lässt.

Die Reaction mit Jod ist für die microscopische Diagnostik des Amyloids bisher nicht zu entbehren; die homogene glänzende Beschaffen-

heit theilt das Amyloid mit anderen colloiden und hyalinen Substanzen, welche letztere mit Jod nur schwach gelb gefärbt werden. Auch die Rothfärbung bei Behandlung mit violetten Anilinfarbstoffen ist, wie es scheint, nicht immer charakteristisch; z. B. gelingt es häufig, die Harncylinder mit Anilinviolett roth zu färben, während sie mit Jod nur gelb (resp. braun bei zu starker Einwirkung) gefärbt werden*). Es ist daraus zu folgern, dass auch die mit Anilin roth gefärbten Cylinder nicht aus eigentlich amyloider Substanz bestehen, vielleicht stellen sie eine Vorstufe des Amyloids dar.

Die chemische Natur der Amyloidsubstanz ist vielfach studirt; man weiss, dass sie eine stickstoffreiche, den Eiweisskörpern nahestehende Substanz ist. Dagegen ist die Ursache der Jod- und Jodschwefelsäurereaction, von welcher das Amyloid den sehr unpassenden Namen erhalten hat, noch völlig unbekannt; wir wissen nichts über die rothe Jodverbindung und über den blauen Körper, in den die letztere durch Schwefelsäure übergeführt wird.

Es ist zu bemerken, dass auch das Cholestearin in dünner Jodlösung ziemlich dunkel gefärbt wird; lässt man unter dem Deckglase einen Tropfen starke Schwefelsäure zutreten, so erhält man an den Ecken der Tafeln ebenfalls eine schön blaue Färbung.

11. Carmin.

Die Einführung der Carminfärbung datirt vom Jahre 1858, wir verdanken sie Harting und Gerlach.

a. Carmin-Ammoniak.

Nach der ursprünglichen Gerlach'schen Vorschrift wurde das Carmin in Ammoniak gelöst; man nehme etwa einen Theil feinst pulverisirtes Carmin, füge dazu einen Theil Liq. ammon. caust. und fünfzig bis hundert Theile Wasser; die Mischung bleibt 24 Stunden lang offen stehen, um den grössten Theil des Ammoniak abdunsten zu lassen, und wird dann filtrirt.

Je weniger freies Ammoniak die Lösung enthält, desto schonender wirkt sie auf die Gewebe; die Lösung muss indessen oft erneuert werden, da sie durch Schimmelbildung etc. leicht verdirbt.

Das carminsaure Ammoniak färbt eine grosse Zahl der im Thierkörper vorkommenden Substanzen und zwar sehr rasch, die Färbung ist echt, d. h. beständig, besonders wenn der Schnitt nach dem sorgfältigen Auswaschen in eine dünne Essigsäure (behufs Fixation) ge-

*) Uebrigens färben sich in gewissen Fällen die Cylinder auch mit Jod rothbraun.

bracht worden ist. Hat man die Auswaschung nicht ganz correct vorgenommen, so wird das Präparat durch den in der Säure eintretenden körnigen Carminniederschlag vollständig verdorben.

Gefärbt werden: das Protoplasma und die Kerne fast aller Zellen, die fibrilläre Grundsubstanz des Bindegewebes, die quergestreiften und glatten Muskelfasern, die Grundsubstanz des osteoiden Gewebes und des entkalkten Knochens, das Fibrin, die Glia des Centralnervensystems, die Axencylinder der Nerven, die meisten colloiden Substanzen etc. Ungefärbt bleiben hauptsächlich die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels, das elastische Gewebe, die Hornsubstanz, die Markscheiden der Nerven, das Fett, die Schleimsubstanz, der verkalkte Knochen etc.

In Gebrauch ist das Carmin-Ammoniak hauptsächlich für Untersuchungen des Nervensystems, zur Darstellung der Axencylinder.

Das Nervensystem wird, wie erwähnt, meist in Lösungen von Chromsalzen gehärtet; je länger der Aufenthalt in den letzteren gewährt hat, desto schwieriger und langsamer pflegt die Färbung vor sich zu gehen; es dauert oft mehrere Tage, bis die genügende Färbungsintensität erreicht wird. Besonders wenn man es mit sehr kleinen Axencylindern zu thun hat (z. B. am Opticus), die demnach eine sehr intensive Färbung beanspruchen, tritt dieser Uebelstand störend hervor. Man kann in diesen Fällen die Färbung beschleunigen resp. intensiver herstellen, indem man die Farbelösung in einen auf etwa 50° erwärmten Raum einbringt (Obersteiner); die Färbung tritt unter diesen Umständen schon binnen etwa einer Stunde in ausreichender Weise ein. Von Henle und Merckel rührt eine andere sehr empfehlenswerthe Methode her: Man bringt den Schnitt zuerst in eine Lösung von Chlorpalladium (1:500) für etwa 10 Minuten, dann ist er strohgelb gefärbt und kommt darauf in die Carminlösung; schon nach wenigen Minuten ist er tief roth gefärbt und wird nach sorgfältigem Auswaschen in Wasser, Entwässern in Alcohol, Aufhellung in Nelkenöl untersucht. Die Markscheiden sind bei dieser Methode gelb, die Glia, Ganglienzellen und Axencylinder intensiv roth gefärbt. Will man ausserdem noch die Kerne hervorheben, so kann man sie sehr schön an dem mit Carmin gefärbten Schnitt nachträglich durch Hämatoxylinfärbung (vgl. S. 38) darstellen; derartige Doppelfärbungen sind besonders für Untersuchung der secundären Degeneration des Rückenmarks, Sclerose, Tabes etc. sehr zu empfehlen. Oft stört die diffus rothe Färbung der Neuroglia an derartig behandelten Präparaten; um diese zu entfernen, legt Ranvier die Schnitte nach der Carminfärbung in Ameisensäure 1 Thl., Alcohol 2 Thl., für 5-10 Stunden; dann bleiben Axencylinder und Kerne roth, die Glia wird entfärbt. (Compt. rend. 1883 Nov.)

Ausserdem wird das Carminammoniak meist nur noch für Untersuchung des Knochensystems verwendet; auch hier eignet sich eine Doppelfärbung (mit Hämatoxylin) sehr gut. Besonders bei Untersuchung der Rachitis und Osteomalacie, welche am besten an frischen Präparaten, d. h. ohne künstliche Entkalkung, vorgenommen wird, ist die Hervorhebung des osteoiden Gewebes durch das Carminammoniak von wesentlichem Werth.

Andere Carminfärbungen.

Es sind eine grosse Menge von Modificationen der Carminfärbung vorgeschlagen und empfohlen worden; wir führen nur einige derselben hier an, die für pathologisch - anatomische Zwecke von besonderem Werthe sind.

b. Picrocarmin. (Schwarz, Ranvier.)

Das Picrocarmin der Droguisten ist für gewöhnlich unbrauchbar; nach Weigert setzt man diesem eine geringe Menge Essigsäure zu, um eine gut färbende Substanz zu erhalten; tritt dabei ein Niederschlag ein, so wird derselbe durch eine Spur Ammoniak leicht gelöst.

Der Verfasser bereitet sich ein sehr rasch färbendes Picrocarmin nach folgender Vorschrift:

Zu einem Theile ammoniakalischer Carminlösung (1 Carmin, 1 Ammoniak, 50 Wasser) giesst man unter fortwährendem Umrühren allmählich, zuletzt nur tropfenweise, zwei bis vier Theile einer gesättigten Lösung von Picrinsäure zu, und zwar so lange, bis der anfänglich entstehende Niederschlag beim Umrühren nicht mehr gelöst wird; je reicher der Gehalt an Ammoniak, desto grösser ist die nothwendige Menge von Picrinsäure. Die Flüssigkeit wird dann filtrirt, behufs der Conservirung setzt man zu je 100 Ccmtr. derselben einige Tropfen Phenol, eine etwaige später eintretende Trübung wird durch Zusatz einer Spur Ammoniak leicht gelöst.

Diese Färbeflüssigkeit ist für die meisten Zwecke sehr brauchbar; sie bewirkt innerhalb weniger Minuten eine Doppelfärbung: die sämmtlichen Kerne werden intensiv roth, eine schwach rothe Nuance erhält die fibrilläre Substanz des Bindegewebes etc., dagegen werden die protoplasmatischen Substanzen, die glatten und quergestreiften Muskelfasern, die Hornsubstanz, die meisten hyalinen und colloiden Substanzen etc. mehr oder weniger intensiv gelb.

Die Differenz wird oft noch frappanter, wenn die Schnitte nach der Färbung für eine halbe Stunde in ein Schälchen mit salzsäurehaltigem Glycerin (ein Theil Salzsäure auf 100 Theile Glycerin) gebracht werden; die Picrocarminlösung färbt nämlich besonders schnell und intensiv, wenn sie noch etwas freies Ammoniak enthält; in diesem Falle überwiegt aber

zunächst die Carminfarbe. Erst durch die Behandlung mit dem säurehaltigen Glycerin wird dann der rothe Farbstoff aus den protoplasmatischen und Zwischensubstanzen etc. entfernt, so dass die gelbe Picrinfärbung derselben zur Geltung kommt (Neumann); dagegen wird gleichzeitig in den Kernen der rothe Farbstoff fixirt. Es ist noch zu bemerken, dass die Rothfärbung der Kerne (in neutralen oder sauren Flüssigkeiten) dauernd bleibt, dagegen die gelbe Picrinfärbung ziemlich schnell ausgelaugt wird; zur Erhaltung des gelben Farbentones in den Präparaten pflegt man dem anzuwendenden Wasser, Glycerin und Alcohol eine geringe Menge Picrinsäure zuzusetzen, bis zu leicht gelblicher Färbung. Dann lassen sich die Picrocarminfärbungen sowohl in Glycerin wie in Canadabalsam sehr gut conserviren.

Wegen der sehr bequem herzustellenden Doppelfärbung, der scharfen Hervorhebung der Kerne einerseits, andrerseits des Protoplasma's der hyalinen Substanzen, des Horns, der glatten Muskelfasern etc. ist das Picrocarmin ein sehr schätzenswerthes Mittel. Die Entdeckung der Tuberkel in den scrophulösen Granulationen, im Lupusgewebe etc. ist dem Verfasser durch Anwendung dieser Methode wesentlich erleichtert worden, auch für das Nerven- und Knochensystem, viele Drüsen etc. ist das Picrocarmin sehr empfehlenswerth.

c. Borax-Carmin. (Grenacher.)

Carmin	0,5
Borax	2,0
Aq. dest.	100,0

in einer Porcellanschale gemischt, zum Kochen erwärmt; zu der blaurothen Flüssigkeit wird unter fortwährenden Umrühren tropfenweise verdünnte Essigsäure (etwa 5 %) zugesetzt, bis die Färbung umschlägt und in die der ammoniakalischen Carminlösung übergeht; dann 24 St. stehen lassen, decantiren und filtriren; zur Conservirung werden einige Tropfen Phenol zugesetzt.

Ein in diese Lösung eingebrachter Schnitt wird in kürzester Zeit, schon in wenigen Minuten intensiv gefärbt; die Färbung ist indessen ganz diffuse und in Folge dessen unbrauchbar. Dagegen erhält man die prachtvollste, isolirte Kernfärbung, wenn man den intensiv gefärbten Schnitt in ein mit salzsäurehaltigem Alcohol gefülltes Schälchen einbringt:

Salzsäure	1,0
Alcohol	70,0
Aq. dest.	30,0

Der Schnitt giebt sofort einen Theil des Farbstoffes ab, umgiebt sich mit einer rothen Wolke; nach einigen Minuten bis einer halben Stunde

wird er ausgewaschen (in Wasser oder in Alcohol) und in Glycerin oder in Nelkenöl untersucht.

Diese Methode giebt die intensivste Kernfärbung; man muss indessen bei ihrer Anwendung die Wirkung der Salzsäure mit in Kauf nehmen, resp. in Rechnung ziehen, Auflösung des Kalks, Aufquellung des Fibrins, des Protoplasma, der fibillären Substanz etc.

d. Carmin-Alaun. (Grenacher.)

Ein Gramm Carmin wird mit 100 Ccmtr. einer 5 procentigen Alaunlösung erwärmt; man lässt 20 Minuten lang kochen und filtrirt nach dem Erkalten.

Innerhalb 5—10 Minuten erhält man mit dieser Lösung eine nahezu reine Kernfärbung, nicht ganz so intensiv wie mit der vorigen.

e. Cochenille-Alaunlösung

(nach Partsch und Czokor).

Ein Theil feinste Cochenille (die Muttersubstanz des Carmin) und ein Theil Alaun werden mit 100 Theilen Wasser erwärmt und bis auf etwa die Hälfte des Volumens eingekocht; eine Spur Phenol zugesetzt, filtrirt.

Die Wirkung ist ganz ähnlich als die der vorigen Lösung; ich benutze dieselbe gern zur gleichzeitigen Färbung von Kernen und Axencylindern in Schnitten des Central-Nervensystems, nach vorangegangener Härtung in Chromsalzen. Innerhalb 24 Stunden ist die Färbung geschehen und zwar haben die Kerne einen andern, mehr violetten Farbenton, als die Axencylinder.

f. Lithion-Carmin. (Orth.)

In 100 Theile einer gesättigten Lösung von Lithion carbonicum werden $2\,^1/_2$ Theile Carmin gelöst; die Färbung der Schnitte geschieht in wenigen Minuten; nach Entfärbung in salzsäurehaltigem Alcohol (vgl. oben unter c.) tritt prachtvolle Kernfärbung hervor.

Picro-Lithion-Carmin wird dargestellt, indem man zu der obigen Lösung 2-3 Theile einer gesättigten Picrinsäurelösung hinzufügt. Die Färbung tritt ebenfalls sehr rasch ein und gewährt den Vortheil der Doppelfärbung, wie bei Picrocarmin. Auch hier kann man nachträglich mit salzsäurehaltigem Alcohol oder Glycerin ein wenig entfärben, wodurch die Differenzirung noch stärker wird. — Da die Lösung auch sehr gut haltbar ist, können wir sie sehr empfehlen.

12. Haematoxylin.

Die Weigert'sche Färbung des Centralnervensystems.

Die Haematoxylinfärbung gehört zu den sichersten und vorzüglichsten Mitteln, um die Kerne intensiv hervortreten zu lassen.

Die Krystalle des Haematoxylin lösen sich sehr leicht in Alcohol zu einer bräunlichen Tinctur; giebt man eine kleine Menge dieser Tinctur zu einer wässrigen Alaunlösung, so erhält man in wenigen Minuten eine bläulich gefärbte Flüssigkeit, deren Tinctionsvermögen indessen erst im Laufe einiger Tage seine volle Höhe erreicht; zu gleicher Zeit, oder bald danach, beginnt dann auch eine körnige Ausscheidung des Farbstoffs, wodurch die Präparate verunreinigt werden. Die Lösung muss demnach vor dem Gebrauch stets frisch filtrirt werden. Um eine dauerhafte Lösung von constantem Färbevermögen zu erhalten, ist folgende Vorschrift zu empfehlen:

Haematoxylin	2,0
Alcohol	100,0
Aq. dest.	100,0
Glycerin	100,0
Alaun	2,0

Eventuell kann der Lösung etwas Essigsäure zugesetzt werden, um Ueberfärbung zu vermeiden (P. Ehrlich). Es ist zu bemerken, dass die Lösung ihr volles Färbevermögen erst acht Tage nach ihrer Herstellung erreicht.

Ein in diese braune Lösung eingelegter Schnitt wird in kürzester Zeit ebenfalls braun gefärbt; der Schnitt wird in destill. Wasser ausgewaschen und verändert binnen wenigen Minuten seine Färbung in Blau. Wir finden dann eine fast isolirte Färbung der Kerne und der (meisten) Schizomyceten. Sind auch andere Gewebselemente mitgefärbt, so ist salzsäurehaltiger Alcohol zur Entfärbung zu verwenden; die Kernfärbung bleibt dabei gut erhalten. Für viele Zwecke ist ausserdem noch eine Färbung der protoplasmatischen Substanz wünschenswerth; dieselbe kann durch eine nachträgliche Färbung mit Picrinsäure (gesätt. Lösung) oder mit Eosin hergestellt werden. (S. unter Eosin.) Die mit Haemotoxylin gefärbten Präparate werden in Glycerin allmählich entfärbt, man conservirt sie deshalb am besten in Canadabalsam.

Ganz neuerdings hat uns Weigert*) eine sehr werthvolle Anwendung der Haematoxylinfärbung für das Centralnervensystem kennen gelehrt, durch welche es gelingt, die feinen markhaltigen Nervenfasern, die früher

*) Fortschr. d. Med., Bd. II, S. 190.

nur äusserst schwierig dargestellt werden konnten, in sehr eleganter Weise darzustellen. Die ganz eigenartige Methode ist ein wenig complicirt:

Die Parthien des Centralnervensystems werden in Müller'scher oder Erlitzki'scher Lösung (vgl. S. 22) erhärtet, dann ohne vorherige Auswässerung in Alcohol gebracht; auch die Schnitte dürfen vor der Färbung nicht in Wasser, sondern nur in Alcohol aufbewahrt werden. Die Färbelösung besteht aus 1 Thl. Haematoxylin, 10 Thl. Alcohol, 90 Thl. Wasser; die Mischung wird gekocht und einige Tage stehen gelassen; die Färbung der Schnitte geschieht am besten bei etwa 40° C., also im Brütofen und zwar durch 1—2 Stunden, dann wieder in Wasser abgespült. Die dunkelschwarzen, stark überfärbten Schnitte werden dann in einer Mischung von $2^1/_2$ Ferridcyankalium, 2 Borax, 100 Wasser grösstentheils entfärbt, während einer halben bis ganzen Stunde, bis die graue Substanz gelblich erscheint; die weisse Substanz bleibt schwarz. Dann werden die Schnitte in Wasser gut abgespült (Ferridcyankalium wird durch Alcohol gefällt), kommen in Alcohol, Xylol und Canadabalsam.

Das Nervenmark tritt bei dieser Färbung durch dunkle Färbung sehr scharf zu Tage, während die Axencylinder, Ganglien, Zellen, Kerne etc. fast farblos bleiben.

Es ist durch Anwendung der Weigert'schen Methode gelungen, die seit lange postulirte Veränderung der grauen Substanz bei der Tabes, nach der man bisher vergebens geforscht hat, mit Sicherheit nachzuweisen, namentlich den Schwund des Netzes feiner Nervenfasern im Inneren der Clarke'schen Säulen. Dieser Befund ist von hoher theoretischer Bedeutung; da ähnliche Veränderungen wohl auch sonst noch aufzufinden sein werden (Hirnrinde bei der progressiven Paralyse, secundäre Degenerationen, Retinalaffectionen etc.) so haben wir die Methode ausführlich mitgetheilt. Die durch dieselbe zu erhaltenden Präparate sind ungemein prägnant; nachträgliche Kernfärbung kann man z. B. durch Alauncarmin leicht erzeugen.

13. Eosin.

Das Eosin giebt eine bei durchfallendem Lichte rosaroth, bei auffallendem Lichte grünlich gefärbte fluorescirende Lösung, welche schon bei einem Gehalt von 1:1000 den Schnitten in wenigen Minuten eine intensiv rosarothe Färbung ertheilt. Die Färbung ist meist eine sehr diffuse, die verschiedensten Substanzen betreffend; auch die rothen Blutkörper (an Schnitten, die aus Alcoholpräparaten entnommen sind, noch stärker, wenn Chromsalze zur Härtung benutzt worden sind) nehmen einen intensiv rosarothen Farbenton an. Die Färbung wird durch absoluten Alcohol Anfangs sehr rasch, später langsamer ausgezogen, so dass man durch dieses Mittel

bei einiger Aufmerksamkeit leicht jede gewünschte Nuance der Färbung herstellen kann.

Eine reine Eosinfärbung ist nur sehr selten von Vortheil (über die eosinophilen Zellen des Blutes siehe unten) dagegen wird das Eosin sehr oft zu Doppelfärbungen verwendet, in Combinationen mit Kernfärbungen. Des Contrastes wegen eignen sich am besten die blauen Kernfärbungen zu diesem Zwecke, also Gentiana- oder Methylviolett (s. d.) oder Haematoxylin. Man kann nach dem Vorgange von Renaut eine Haematoxylin-Eosinmischung herstellen, in welcher die Doppelfärbung direct bewirkt wird; zu der von uns angegebenen Haematoxylinlösung braucht man nur etwa 0,5 Eosin hinzuzusetzen, um eine derartige Mischung zu erhalten. Die Schnitte zeigen zu Anfang gewöhnlich eine zu starke Eosinfärbung; nach kurzem Aufenthalt in Alcohol tritt dann die passende Färbungsnuance zu Tage, worauf der Schnitt gewöhnlich am besten in Nelkenöl untersucht wird.

Diese Methode ist zur Färbung von Schnittpräparaten in sehr vielen Fällen die beste und bequemste. Am intensivsten gefärbt erscheinen gewöhnlich die Kerne der lymphoiden Zellen, dann die der Capillaren, der sonstigen Endothelien, des Bindegewebes, weniger stark die Kerne des Epithels etc. Auch in der Färbungsintensität des Protoplasmas kommen Differenzen heraus, welche oft schon für die schwache Vergrösserung die Erkennung der einzelnen Elemente ermöglichen; z. B. färben sich mit besonderer Stärke die Belegzellen der Magendrüsen, die Riesenzellen der Tuberkel etc.

14. Anilinschwarz (Nigrosin). Anilinblau.

Diese beiden Farbstoffe wirken sehr ähnlich; sie sind zur Färbung der Axencylinder an Schnitten des Nervensystems in Gebrauch; der Schnitt kommt in eine etwa 1 procentige Lösung, wird in einigen Minuten sehr dunkel tingirt, dann in Alcohol ausgewaschen und grösstentheils wieder entfärbt. Ist die passende Nuance erreicht, was leicht auszuprobiren ist, so kommt der Schnitt in Nelkenöl resp. Canadabalsam; die Axencylinder, die Ganglienzellen, weniger stark die Neuroglia zeigen eine sehr brauchbare blaue resp. schwarze Färbung.

Ausserdem kann man sie zur Färbung des Protoplasmas verwenden; z. B. geben schon ganz schwache Lösungen eine sehr dunkle und charakteristische Färbung der Belegzellen (die früher sogenannten Labzellen) der Magendrüsen.

15. Die kernfärbenden basischen Anilinfarbstoffe.

Von den kernfärbenden, basischen Anilinfarbstoffen sind hauptsächlich die folgenden in Gebrauch:*)

Vesuvin (Bismarckbraun).

Fuchsin.

Gentiana- und Methylviolett.

Methylenblau. Ausserdem noch: Dahlia, Magdala, Methylgrün etc.

Diese verschiedenen Stoffe haben nahezu die gleichen Eigenschaften gegen die Gewebe, wir können sie daher gemeinschaftlich besprechen. Sie sind sämmtlich in Alcohol und in Wasser leicht löslich, ihre alcoholischen Lösungen werden nur selten angewendet; wir benutzen fast ausschliesslich die wässrigen. Am besten hält man sich je eine concentrirte wässrige Lösung, welche überflüssigen Farbstoff enthält, vorräthig, unmittelbar vor dem Gebrauch filtrirt man sich von dieser Lösung die nothwendige Menge ab. Oft ist es bequem, statt dieser ganz undurchsichtigen höchst intensiv gefärbten Lösung auch eine dünnere, weniger stark wirkende Lösung im Vorrath zu haben, etwa 1 : 100, welcher man der Haltbarkeit wegen etwa ein Zehntel des Volumens Alcohol zusetzen mag.

Kernfärbung. Kernlose Zellen.

Wird nun ein Schnitt in diese Lösung eingelegt, so ist derselbe nach kurzer Zeit, binnen wenigen Minuten, äusserst dunkel gefärbt; spült man ihn in Wasser ab und untersucht ihn, so findet man eine fast vollständig diffuse, gleichmässige, in Folge dessen unbrauchbare Färbung. Erst nach der Einwirkung von Alcohol treten die Vortheile der Färbung hervor; der in ein Schälchen mit Alcohol eingebrachte Schnitt giebt eine grosse Menge Farbstoff ab, er umgiebt sich mit einer farbigen Wolke; nach einigen Minuten auf's Neue untersucht, findet man eine prachtvolle distincte Färbung der Kerne etc., und zwar sind die Kerne der lymphoiden Zellen, sowie die der Bindegewebs- und Endothel-Zellen gewöhnlich viel dunkler tingirt, als die der Epithelzellen. Die übrigen Substanzen sind fast sämmtlich ungefärbt, mit einigen wenigen Ausnahmen, die sogleich besprochen werden sollen. Der Vorgang ist demnach schnell beendet, der

*) Man bezieht diese Farbstoffe durch den Droguisten; in Berlin werden sie bei Hesterberg, Droguenhandlung, Louisenstr. 39, ausserdem bei König, Portier des physiologischen Instituts, Dorotheenstr. 35, in Leipzig bei Gruebler, Dufourstr., vorräthig gehalten.

Schnitt kommt einige Minuten in die Farbelösung, dann einige Minuten in Alcohol; von da wird er entweder in Nelkenöl übertragen, wobei die ungefärbten Partien fast ganz aufgehellt werden, und event. in Canadabalsam conservirt; oder aber er wird wieder in destillirtes Wasser gebracht und in Glycerin untersucht. Es ist dabei zu bemerken, dass in den Balsampräparaten die Farben sich gut conserviren; dagegen hält sich die Kernfärbung in den Glycerinpräparaten nur bei der Bismarckbraun- resp. Vesuvinfärbung, während sie bei der Färbung mit Methylviolett etc. in Glycerin allmählich verloren geht (Weigert).

Aus diesem Grunde ist für die meisten Zwecke die Färbung mit Bismarckbraun die empfehlenswertheste, besonders auch für die Färbung frischer Schnitte; diese geben in Lösungen von Bismarckbraun keine Niederschläge, dagegen oft sehr störende, körnige Fällungen in der Lösung des Methylvioletts.

Durch die distincte, isolirte Kernfärbung, welche ausser durch die genannten Anilinfarbstoffe auch durch Haematoxylin, Picrocarmin, Carmin-Borax, Lithioncarmin etc. erzeugt werden kann, ist Weigert zu der wichtigen Entdeckung geführt worden, dass bei einer grossen Zahl von pathologischen Processen die Zellkerne entweder sämmtlich, oder wenigstens in bestimmten Categorien von Zellen verloren gehen, eine Thatsache, welche früher so gut wie ganz unbekannt geblieben war. Zuerst wurde die Kernlosigkeit der Zellen in den tiefen Zellenschichten der Epidermis bei dem Pockenprocess gefunden, dann bei der Diphtheritis, ferner in verschiedenen Organen in der Umgebung von Micrococcencolonien, in den gewundenen Harncanälchen bei der Chromvergiftung, in den Niereninfarcten, bei dem Verkäsungsprocess etc. Es stellte sich bald heraus, dass die Kernlosigkeit an Zellen auftritt, welche necrotisirt sind und noch nach dem Absterben eine gewisse Zeit lang einem wenn auch verringerten Säftestrom ausgesetzt bleiben; in vielen Fällen nimmt das Protoplasma der Zellen gleichzeitig eine hellglänzende, homogene Beschaffenheit an und dies sind dann die Fälle, für welche Cohnheim den Ausdruck „Congulationsnecrose“ eingeführt hat. Dieser Ausdruck ist später mehrfach missbräuchlich angewendet worden; man sollte ihn meiner Meinung nach auf diejenigen Fälle einschränken, in denen neben der Necrose auch die Congulation nachgewiesen oder wenigstens wahrscheinlich gemacht ist; jedenfalls darf nicht jede Zelle, an der ein bestimmtes Kernfärbungsverfahren nicht recht anschlägt, als der „Congulationsnecrose“ verfallen betrachtet werden. Für die Anilinfärbungen ist zu bemerken, dass die Kerne von ganz normalen Epithelzellen, wenn die Färbung in saurer Lösung geschieht, oder wenn zur Entfärbung ausser dem Alcohol noch verdünnte Essigsäure verwendet wird, unter Umständen vollständig farblos erscheinen können. Im Uebrigen ist es durchaus nicht sichergestellt, dass jede Zelle, deren Kern nicht nachzuweisen ist, deshalb schon als necrotisch anzusehen ist; jeden-

falls thut man daher gut, in solchen zweifelhaften Fällen von Zellen ohne färbbaren Kern nicht sofort von Congulationsnecrose zu sprechen.

Ehe der Kern vollständig schwindet, findet man oft an seiner Stelle kleine, stark gefärbte Körnchen, die man wohl als Zerfallsproducte des Kerns ansehen darf, die aber von Ungeübten oft fälschlich für Micrococcen gehalten werden; sie unterscheiden sich von diesen sofort durch ihre höchst variable Grösse.

Ausser dem Kern färben sich auf die angegebene Methode:

1. Die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels.

2. Die schleimigen Substanzen, namentlich auch der Schleim in den Drüsen.

3. Die meisten Micrococcen- und Bacillen-Formen; von ihnen wird sogleich des Weiteren gehandelt werden.

4. Gewisse Protoplasmakörnungen, das Protoplasma der sogenannten Mastzellen.

Mastzellen.

Die von Ehrlich näher studirten „Mastzellen" sind ungefähr kugelige, zuweilen auch platte und spindelförmige Gebilde von etwa der doppelten Grösse der Lymphoidzellen; sie bestehen aus einem ziemlich grobkörnigen Protoplasma, dessen Körner mit den basischen Anilinfarbstoffen bei Anwendung der oben angegebenen Methode intensiv gefärbt werden. Bei Anwendung der violetten Farbstoffe nehmen die Körner eine röthliche Färbung an; stets aber bleibt der Kern ungefärbt und tritt als heller Fleck in der Mitte der stark gefärbten Protoplasmakörner hervor. Sie kommen in grosser Verbreitung im Bindegewebe vor; besonders reichlich in Schleimhäuten, im submucösen Gewebe, aber auch im intermuscularen Gewebe, in serösen Häuten etc., meist in der Nähe der Gefässe gelegen, fast stets aber vereinzelt. Ihre physiologische und pathologische Bedeutung ist noch sehr wenig bekannt, mit der Mästung stehen sie nicht in nachweisbarer Beziehung. In grosser Menge finden sie sich bei langsam entstehenden Granulations- resp. Bindegewebswucherungen, wie bei der Elephantiasis, in der Umgebung von Tumoren. Ausserdem sind sie im leukämischen Blut gefunden worden, sie fehlen im normalen Blute des Menschen.

Amyloidfärbung durch die violetten Anilinfarben.

Eine interessante Reaction zeigen die violetten basischen Anilinfarbstoffe, Methylviolett und Gentianaviolett (die früher zuweilen angewendete Leonhardi'sche Dinte enthält wohl einen dieser Farbstoffe), gegen die amyloiden Substanzen, wie durch Heschl, Juergens und Cornil un-

gefähr gleichzeitig gefunden wurde; sie färben dieselben intensiv roth, während die Kerne etc. blau gefärbt werden. Die rothe Farbe des Amyloids erhält sich in verdünnten Säuren, wird dagegen in Alcohol sofort weggenommen (während die ebenfalls leicht röthliche Färbung der Mastzellen in Alcohol erhalten bleibt). Wir können demnach die so gefärbten Präparate nicht auf die gewöhnliche Weise mit Alcohol entfärben, sondern benutzen dazu eine verdünnte Säure, etwa Essigsäure 1:100; wir färben von vornherein nicht zu stark, benutzen also eine verdünntere Farbstofflösung, etwa 1:1000, welche schon in wenigen Minuten eine ausreichende Färbung giebt; untersucht und conservirt werden die Schnitte in Glycerin (wobei die Kernfärbung allerdings nach einiger Zeit verloren geht).

Die Farbendifferenz zwischen den rothen amyloiden und den übrigen blauen Partien ist sehr in die Augen fallend; dabei hat man an gut hergestellten Präparaten noch eine distincte, blaue Kernfärbung. In Folge dessen hat die Anwendung dieser Methode grosse Vortheile gegen die früher allein bekannte Amyloidfärbung mit Jod resp. Jod und Schwefelsäure; bekanntlich ist Eberth durch planmässige Benutzung dieser Methode zu dem wichtigen Resultat gekommen, dass die zelligen Elemente, z. B. der Leber, Nieren, Milz, ebenso die glatten Muskelfasern der Gefässe, niemals der amyloiden Degeneration verfallen, sondern stets nur die Zwischensubstanz und die homogenen Membranen. Für die Entscheidung derartiger Fragen ist die Anilinmethode entschieden superior; dagegen ist nach der Richtung hin Vorsicht geboten, dass nicht jede Rothfärbung mit Methylviolett nothwendig richtige amyloide Degeneration anzeigt; auch andere, der amyloiden Substanz vielleicht nahestehende hyaline Bildungen, z. B. gewisse Harncylinder, zeigen die Reaction, ohne deshalb als amyloid gelten zu dürfen. Die zwei Arten des Amyloids, welche oben an der Hand der Jod-Schwefelsäurereaction unterschieden wurden, verhalten sich gegen die Anilinfarben gleichmässig.

Curschmann hat neuerdings das Methylgrün zur Amyloidfärbung empfohlen; die amyloiden Parthien werden violett, die normale Substanz, besonders die Kerne grün. Die Farbendifferenz ist allerdings höchst frappant; indessen beruht die violette Amyloidfärbung nur auf zufälliger Beimischung von Methylviolett zu dem käuflichen, unreinen Methylgrün. Im Allgemeinen ist die Verwendung verunreinigter Fabrikate für unsere Zwecke nicht empfehlenswerth; am besten halten wir uns an chemisch genau definirte Körper in reinstem Zustande.

Nachweis und Färbung der Schizomyceten.

Die Färbung der Schizomyceten hat einen wesentlichen Antheil an den wichtigen Entdeckungen gehabt, die in den letzten Jahren auf dem

Gebiete der Infections-Krankheiten gemacht worden sind; wir haben demnach alle Ursache, dieselbe genauer zu besprechen.

a. Nachweis der Schizomyceten im ungefärbten Zustande.

Um die Schizomyceten im ungefärbten Zustande in den Geweben nachzuweisen, benutzen wir gewöhnlich eine Eigenschaft derselben: die Resistenz gegen Säuren und Alkalien. Ein Schnitt, der von einem frischen oder in Alcohol gehärteten Präparat*) herrührt, wird durch starke Essigsäure oder durch (verdünnte, etwa 2 procentige) Kali- resp. Natronlösung fast vollständig durchsichtig. Unter den wenigen, bei dieser Behandlung resistirenden Elementen heben sich die Schizomyceten sofort hervor:

1) Durch charakteristische Form der einzelnen Organismen.

Dies trifft vor Allem für die Bacillenformen zu; hier liegt höchstens die Möglichkeit vor, dass kleine Crystalle Anlass zu Verwechslungen geben.

In der That kann man z. B. die Bacillen des Ileotyphus und der Tuberculose sehr gut auf diese Weise in den Organen demonstriren; man verwendet dabei am besten Präparate, die erst kurze Zeit in Alcohol lagen, da späterhin die Schnitte gewöhnlich nicht mehr vollständig durchsichtig werden. Klebs und Baumgarten haben hierauf ein entscheidendes Gewicht gelegt; indessen gelingt es, selbst wenn man auf die Untersuchung alter Spirituspräparate angewiesen ist, fast immer noch eine ausreichende Aufhellung der Schnitte herbei zu führen, nämlich durch eine kurzdauernde Erwärmung des mit Kalilauge oder Essigsäure eingedeckten Präparats bis zur beginnenden Blasenbildung.

2) Durch charakteristische Zusammenlagerung der einzelnen Organismen, durch ihre Gruppenbildung; und zwar handelt es sich hierbei entweder um Ketten (Diplococcen, Streptococcen, Streptobacterien etc.) oder um sogenannte Colonienbildung (Gliacoccus etc.). In diesen Fällen wird wohl nur höchst selten die Möglichkeit einer Verwechselung mit anorganischen Niederschlägen vorliegen; von feinsten Fetttropfen unterscheiden sie sich sofort dadurch, dass sie dem Entfettungsverfahren mit Aether und Chloroform resistiren.

Erleichtert wird die Erkenntniss der Micrococcenketten und Haufen durch den eigenthümlichen Glanz der einzelnen Körnchen, event. durch die (bräunliche) Färbung derselben, die übrigens nur bei bestimmten Arten und stets nur dann auftritt, wenn man viele übereinander gelagerte Körnchen vor sich hat, und durch die annähernd gleichmässige Beschaffen-

*) Härtung in Chromsäure, Müller'scher Lösung etc. ist für die Untersuchung auf Schizomyceten nicht geeignet, da durch die Chromwirkung in den Geweben reichliche dunkle, sehr schwer aufzuhellende Körnungen entstehen.

heit, sowie die bei starker Vergrösserung sichtbare scharfrandige Begrenzung der einzelnen Organismen. Die volle Sicherheit, dass es sich wirklich um Organismen handelt, erlangt man dann, wenn es gelingt, den Beweis des Wachsthums zu erbringen. Dies ist dann möglich, wenn die Organismen im Innern von Gefässen zur Entwickelung kommen; indem sie bei ihrem Wachsthum die Gefässlumina in ungleichmässiger Weise ausdehnen; da ja ihr Wachsthum an den verschiedenen Punkten mehr oder weniger rapide zu Stande kommt, entstehen an den Gefässen varicöse Auftreibungen. Dies findet sich sehr häufig in Fällen von metastasirender Pyämie, Endocarditis ulcerosa etc. an den Blutgefässen, Capillaren und kleinen Venen; Vf. fand eine ähnliche varicöse Injection mit Schizomyceten an den Lymphgefässen bei der acuten, croupösen Pneumonie. Schon früher waren solche Formen von „capillärer Embolie“, von ungleichmässiger Erfüllung der Capillaren mit körnigem Material gesehen worden, man wusste auch bereits, dass diese Embolien zu Entzündungsheerden führen; indessen bezeichnete man dieses körnige Material als Detritus, bis dann v. Recklinghausen, sehr bald nachher auch Klebs, Waldeyer u. A., gestützt wesentlich auf die varicöse Form der Injection, zu der wichtigen Erkenntniss gelangten, dass die „Detrituskörner“ lebende, parasitäre Organismen, Micrococcen darstellen. Denn nur eine Substanz, der eine eigene Wachsthumsfähigkeit zukommt, kann eine derartige ungleichmässige, knotige Form der Gefässinjection bedingen.

Nachdem dieser Nachweis einmal gesichert ist, brauchen wir natürlich nicht mehr in jedem einzelnen Falle die Wachsthumserscheinungen nachzuweisen, um die Diagnose auf „Micrococcencolonie“ zu stellen; wenn wir in einem Schnitt, der vom frischen oder in Alcohol gehärteten Organ herrührt, Haufen oder Ketten kleiner Körnchen finden, die unter sich von annähernd gleicher Grösse sind, die sowohl der Behandlung mit Alcohol und Aether, als auch der energischen Einwirkung von concentrirter Essigsäure und der Alkalien auch beim Erwärmen resistiren, so sind wir berechtigt, die Körner als Organismen anzusprechen.

In allen wichtigen, irgendwie zweifelhaften Fällen werden wir natürlich nicht verfehlen, auch die Färbungs-Reaction in der gleich zu beschreibenden Weise vorzunehmen; auch für das Auffinden der Schizomyceten in Schnitten sind die Färbungen natürlich von grossem Vortheil.

Die Methoden der Züchtung der Schizomyceten besprechen wir hier nicht; wir verweisen auf die classische Darstellung von Koch, in den Mittheilungen des kaiserlichen Gesundheitsamts 1881.

b. Färbung der Micrococcen etc.

Die Schizomyceten verhalten sich in Allgemeinen zu den Farbstoffen sehr ähnlich, wie die Kernsubstanz, von der sie sich doch sonst durch ihre Resistenz gegen Alkalien, in denen die Kerne sofort gelöst werden, eminent unterscheiden. Die Methoden der Kernfärbung sind demnach auch für die Färbung der meisten Schizomyceten anzuwenden; und da wir es hier mit sehr kleinen Körperchen zu thun haben, so werden wir danach streben, die möglichst intensive Färbung derselben zu erreichen; dazu sind nun die Färbungen mit Haematoxylin und den kernfärbenden Carminfarben weniger geeignet, als die basischen Anilinfarbstoffe (Weigert). Wir benutzen demnach ganz concentrirte wässerige Lösungen derselben (ein grösserer Zusatz von Alcohol beeinträchtigt das Färbungsvermögen der Lösung); die Intensität der Färbung können wir dann nach Koch noch weiterhin steigern, wenn wir die Färbung bei höherer Temperatur, bei etwa 50 ° C. im Wärmeschrank vornehmen. Die Färbung dauert einige Minuten bis eine halbe Stunde; das nachherige Entfärben in Alcohol (der Alcohol muss rein, vor Allem vollständig säurefrei sein) darf nicht zu lange fortgesetzt werden, da zuweilen auch die Färbung der Schizomyceten durch den Alcohol allmählich blässer wird; die Untersuchung geschieht dann stets in Nelkenöl resp. Canadabalsam und bei voller Abbé'scher Beleuchtung, mit offenem Condensor. Welchen der oben aufgeführten Farbstoffe man benutzt, ist meist von geringem Belange; die mit Vesuvin oder Bismarckbraun gefärbten Präparate können photographirt werden, dagegen giebt die blaue oder rothe Färbung mit Gentianaviolett oder Fuchsin für das Auge gewöhnlich die kräftigsten, intensivsten Bilder.

Verwechseln könnte man die gefärbten Micrococcen — die Bacillen sind wohl unverkennbar — entweder mit Kernrudimenten (s. oben), die sich aber durch ihre sehr verschiedene Grösse und durch die Lagerung an der Stelle des früheren Kerns meist sofort kennzeichnen, oder mit den Körnern der Mastzellen; die letzteren sind aber in Folge ihrer Gruppirung um den centralen, ungefärbt gebliebenen Kern, ebenfalls leicht als solche zu erkennen. Wer allerdings nicht an Genauigkeit im Arbeiten und Beobachten gewöhnt ist, für den liegen noch eine Reihe von unüberwindlich scheinenden Schwierigkeiten in der Erkennung dieser Dinge vor; es ist mir oft vorgekommen, dass ein Untersucher die ganz unregelmässig gestalteten, gefärbten Schleimcoagula oder sonstige rein accidentelle Dinge für Micrococcen anzusprechen geneigt war. Andere lassen ihre Schnitte anstatt in Alcohol tagelang in unreinem Wasser liegen; auf beiden Oberflächen und an den Rändern sammeln sich dann reichliche Schizomyceten an, die, wenn der Schnitt nachträglich gefärbt wird, zu Verlegenheiten in der Deutung Veranlassung geben. Es giebt eben eine Anzahl von Naturen,

die entweder nie, oder erst nach langer, schmerzhafter Erziehung die Fähigkeit zu feineren histologischen Untersuchungen erlangen.

Färben sich nun sämmtliche parasitäre Microorganismen auf diese Weise? Nein, das ist nicht der Fall; eben so wenig wie es eine Universalmethode für histologische Untersuchungen überhaupt giebt, ebenso wenig können wir erwarten, eine Methode zum Nachweis der Microorganismen kennen zu lernen. Gefärbt werden auf die beschriebene Weise zunächst die Micrococcen und zwar, soweit bis jetzt bekannt, die sämmtlichen Micrococcenarten. Es ist hier nur die Einschränkung zu machen, dass die Micrococcen meist nach dem Absterben die Fähigkeit verlieren, den Farbstoff aufzunehmen resp. festzuhalten; man erhält nicht selten im Innern von Organen neben intensiv gefärbten Micrococcenhaufen auch viel blässer gefärbte, selbst ganz farblose Körnerhaufen, die man mit grösster Wahrscheinlichkeit als abgestorbene Micrococcen ansprechen darf. Auch in Micrococcenketten kommen Unterschiede in der Intensität der Färbung an den einzelnen Gliedern der Kette zur Beobachtung, die wohl ebenso aufzufassen sind.

Immerhin ist es nicht unmöglich, dass an den verschiedenen Micrococcenspecies bei weiterem Studium auch Differenzen der Färbbarkeit sich ergeben; bis jetzt ist davon indessen noch nichts bekannt. Die Micrococcen der malignen Endocarditis, der Pyämie, des Erysipelas, der Gonorrhoe etc. verhalten sich der von uns angewendeten Methode gegenüber ganz gleichmässig.

Die Pneumoniemicrococcen sind bekanntlich in vielen Fällen durch eine eigenthümliche Kapsel charakterisirt; dieselbe ist mit Gentianaviolett und Fuchsin nur schwach färbbar, während der Coccus selbst intensiv dunkel gefärbt wird. Mit Bismarckbraun und Methylenblau färbt sich Kapsel und Coccus nahezu oder ganz gleichmässig.

Eine besondere Stellung nehmen die Spirillen des Recurrens ein. Den meisten Untersuchern ist es überhaupt nicht gelungen, dieselben im Innern der Organe in situ nachzuweisen. Bekanntlich sind die Spirillen anders constituirt wie die meisten übrigen Schizomyceten, sie werden durch Säuren und Alkalien, ja schon durch destillirtes Wasser schnell zerstört; sie nähern sich also viel mehr dem Verhalten des Protoplasma's als dem der Kernsubstanz. Demgemäss sind sie auch durch die gewöhnliche Methode der Kernfärbung meist nicht zu tingiren. Nur R. Koch, der grösste Meister auf diesem Gebiet, hat sie durch Anwendung brauner Anilinfarbstoffe auch im Innern der Organe tingirt und photographisch abgebildet; er erklärt selbst den Nachweis der Spirillen im gehärteten Organ für eine schwierige Aufgabe.

Die Bacillen verhalten sich verschieden. Die gewöhnlich bei der Fäulniss der Leiche auftretenden Formen, sowie die Bacillen des Milzbrandes werden intensiv gefärbt. Von den Bacillen des Typhus wurde

die Färbbarkeit zuerst bestritten, aber mit Unrecht, höchstens färben sie sich etwas weniger intensiv; indessen tritt auch dieser kleine Unterschied, wenn man die Färbung in der Wärme vornimmt, vollständig zurück. Dagegen findet man im Innern der Typhusbacillen oft kleine ungefärbte Stellen, scheinbare Lücken, theils kreisrund, theils elliptisch, welche etwa die Hälfte der Breite des Stäbchens und darüber einnehmen. Möglicherweise sind dies die Sporen der Bacillen, möglicherweise auch sonstige „Vacuolen"; nach Gaffky kommt an den bei Körpertemperatur gezüchteten Typhusbacillen eine andere Art von Sporenbildung, nämlich endständige Sporen von der Breite des Bacillus, zu Stande.

Die Leprabacillen färben sich mit Gentianaviolett, Methylviolett und Fuchsin, dagegen nicht in Bismarckbraun; auch in ihnen finden sich ähnliche ungefärbte Stellen, wie in den Bacillen des Typhus.

c. Die Gram'sche Methode.

Während bei der bisher beschriebenen Methode, die bis vor kurzer Zeit die alleinige Färbungsmethode der Schizomyceten darstellte, die Schizomyceten gemeinschaftlich mit den Kernen gefärbt wurden, ist es Herrn Dr. Gram aus Kopenhagen, meinem verehrten Freunde und Mitarbeiter, kürzlich gelungen, ein Verfahren zur isolirten Färbung der Schizomyceten*) aufzufinden, welche für die allermeisten Fälle als die weitaus beste, nahezu ideale Methode zur Schizomycetenfärbung angesehen werden darf. In vielen Fällen verdecken nämlich die stark gefärbten Kerne die stets viel kleineren, deshalb oft nur schwach gefärbte Schizomyceten; bei kernreichen Substanzen, Milz, Lymphdrüsen, pneumonischen Lungen, Granulationsgewebe etc., ist es aus diesem Grunde bei Anwendung der alten Weigert'schen Methode nothwenig, besonders dünne Schnitte zu verwenden; man hat auch dann oft noch grosse Mühe, die feinen Gebilde zu sehen und zu demonstriren. Die Gram'sche Methode leistet eine isolirte Färbung der Schizomyceten, alles andere wird vollständig farblos, die Schizomyceten dagegen höchst intensiv gefärbt, tief dunkelblau, sodass fast jedes einzelne Individuum derselben, welches in dem Schnitt vorhanden ist, dem Untersucher sofort auffallen muss. Die Methode ist vorläufig eine rein empirische; zur Färbung wird benutzt die Ehrlich'sche Lösung von Gentianaviolett in Anilinwasser. Wir schütten in eine Glasflasche fein pulverisirtes Gentianaviolett, etwa zwei Querfinger hoch; darauf giessen wir Anilinwasser, d. i. eine gesättigte Lösung von Anilin (gelbliche ölige Flüssigkeit) in Wasser, die durch Schütteln von 4 Theilen Anilin mit 100 Theilen destillirtem Wasser sofort hergestellt wird; das überschüssige Anilin, das theils zu Boden sinkt, theils im Wasser suspendirt

*) Gram, Fortschritt d. Med. 1884, S. 185.

bleibt und eine leichte Färbung bewirkt, wird durch Filtration entfernt. Das nun vollständig klare Anilinwasser giessen wir auf das trockene Gentianaviolett und erzeugen durch Umschütteln rasch, jedenfalls in 24 Stunden, eine gesättigte Farblösung; fast dasselbe erreichen wir durch Eingiessen von 5 Theilen einer gesättigten alcoholischen Lösung von Gentianaviolett in 100 Theile Anilinwasser. Wenn wir die Flasche durch einen Trichter, der mit Filtrirpapier versehen ist, locker verschliessen, so können wir uns stets die nothwenige Quantität der Lösung ohne weitere Umstände in ein Schälchen abfiltriren; derselbe Filter kann oftmals verwendet werden; die Lösung hält sich mehrere Wochen und Monate hindurch unverändert. In diese Lösung kommt der zu untersuchende Schnitt des in Alcohol erhärteten Organs (resp. das Deckgläschen mit dem daran haftenden Trockenpräparat) für wenige Minuten; der Schnitt darf vorher nur in Alcohol gelegen haben, nicht in Wasser oder in verdünntem Alcohol. Die sehr stark gefärbten Schnitte werden dann in dünne Jodjodkaliumlösung (Jod 1,0 — Jodkalium 2,0 — destillirtem Wasser 300,0) gebracht, wobei ein schmutziger Niederschlag entsteht; hier bleiben sie wieder 1—3 Minuten und kommen dann in absoluten Alcohol. Hier geben sie bald die Farbe fast vollständig ab, der Alcohol wird purpurroth gefärbt, die Schnitte dagegen sind bald so gut wie farblos; sie werden in Nelkenöl aufgehellt und in Xylol-Canadabalsam conservirt, oder auch in Glycerin resp. Glycerinleim.

Während also sämmtliche Gewebsbestandtheile vollständig farblos erscheinen (zuweilen bleibt ein mattblauer Schimmer an den Kernen), treten die Schizomyceten als dunkelblau, fast schwarzblau gefärbte Körner resp. Stäbe, Fäden etc. hervor. Es leuchtet sofort ein, dass die Schizomyceten durch diese Methode in viel grösserer Deutlichkeit und in grösserer Anzahl, wie bei den bisherigen Kernfärbungen, zur Beobachtung kommen. Es ist nicht unmöglich, dass es durch dieselbe gelingen werde, bei denjenigen Infectionskrankheiten, deren pathogene Erreger bis jetzt noch nicht oder nicht genügend bekannt sind (Syphilis, Flecktyphus, Dysenterie etc.) die präsumirten Schizomyceten aufzufinden.

Durch nachträgliche Färbung mit Bismarckbraun kann man sehr schöne Doppelfärbungen herstellen, die Schizomyceten bleiben dunkelblau, die Kerne werden gelb bis braun. Dadurch treten dann die Lagerungsverhältnisse der Schizomyceten in den Geweben deutlicher zu Tage, man erkennt, ob sie innerhalb oder ausserhalb der Zellen gelegen sind, etc.

Es ist übrigens zu bemerken, dass die Typhusbacillen bei diesem Verfahren farblos erscheinen, sie werden ebenso entfärbt, wie die Kerne, sie unterscheiden sich hierdurch von den meisten anderen Bacillenformen. Auch in manchen Fällen von Pneumonie entfärben sich die Coccen fast vollständig bei Anwendung der Jodmethode; in den meisten Fällen dagegen treten sie dabei in enormer Menge auf, ungemein viel zahlreicher, als man bei Anwendung der alten Weigert'schen Methode glauben sollte;

die Vergleichung der beiden Methoden an Schnitten derselben Serie ist sehr lehrreich. Immerhin muss man beachten, dass es Fälle geben kann, in denen die Jodmethode Schizomyceten nicht deutlich macht, die auf andre Weise dargestellt werden können.

d. Färbung der Tuberkelbacillen.

Von grosser Wichtigkeit ist dann das eigenthümliche Verhalten der Tuberkelbacillen gegen die Anilinfärbung.

Nachdem man sich schon längere Zeit vergebliche Mühe gegeben hatte, den Erreger der Tuberculose anatomisch nachzuweisen — die ab und zu auftretenden Angaben über Befunde von Micrococcen etc. in den Tuberkeln ermangelten der Zuverlässigkeit — gelang es widerum Koch*) durch Anwendung eines modificirten Färbungsverfahrens das constante Vorkommen eines specifischen Bacillus in den Producten der Tuberculose nachzuweisen. Da es sich hierbei um eine der wichtigsten Entdeckungen der neueren Medicin handelt, so möchte ich die ursprüngliche Koch'sche Methode hier anführen, obwohl sie durch die bald danach bekannt gewordene Ehrlich'sche Modification in den Hintergrund gedrängt ist und practisch nur noch wenig Anwendung findet. Koch gab folgende Vorschrift: Der Schnitt (resp. das Trockenpräparat, s. unten) kommt für 24 Stunden in folgende Mischung:

Destill. Wasser 200,0, concentr. alcoholische Methylenblaulösung 1,0, 10 % Kalilauge 0,2.

Danach ist er dunkelblau gefärbt und kommt für 15 Minuten in eine concentrirte wässerige Lösung von Vesuvin. Darauf wird er in destillirtem Wasser abgespült, bis die blaue Farbe geschwunden und eine mehr oder weniger starke braune Tinction zurückgeblieben ist; dann in Alcohol entwässert, in Nelkenöl aufgehellt und bei offenen Condensor mit homogener Immersion untersucht. Es erscheinen dann die Kerne, sowie die meisten Arten der Micrococcen braun gefärbt, als ob sie lediglich der Vesuvinlösung ausgesetzt gewesen wären; die Tuberkelbacillen dagegen sind intensiv blau gefärbt. Koch war der Ansicht, dass es auf die alkalische Reaction der Farbelösung ankam, da in sauren oder neutralen Farblösungen die Bacillen niemals gefärbt wurden; die neutrale Lösung eines andern Farbstoffs verdrängt dann die erste Färbung überall, mit Ausnahme der Tuberkelbacillen, welche die ursprüngliche Färbung voll beibehalten.

Es handelt sich also um eine specifische Reaction, welche allein den Tuberkelbacillen gegenüber andern Schizomyceten zukommt; nur die Leprabacillen verhalten sich nach Koch ähnlich; auch sie behalten die blaue

---

*) Koch, die Aetiologie der Tuberculose. Berl. klin. Wochenschr. 1882. No. 15.

Färbung bei. Dieselben werden aber auch bei Anwendung der einfachen Kernfärbung, auf welche die Tuberkelbacillen nicht oder fast nicht reagiren, gefärbt (s. oben).

Die bald danach von *Ehrlich* eingeführte Modification beruht auf folgenden Momenten. Zunächst verwendet er nicht Kalilauge, sondern eine andere Basis zur Herstellung der alkalischen Reaction der Farblösung, nämlich das *Anilin*, eine schwach gelblich gefärbte, ölartige Flüssigkeit, dessen gesättigte wässerige Lösung viel mehr Farbstoff aufzulösen vermag, als die verdünnte Kalilösung. Dann benutzt er zur Entfärbung starke Mineralsäuren. Er geht dabei von der Vorstellung aus, dass *die Tuberkelbacillen, welche nach Koch in neutralen und sauren Farbstofflösungen ungefärbt bleiben, dagegen in alkalischen Lösungen derselben Farbstoffe tingirt werden, von einer Hülle umgeben sind, welche nur für alkalisch reagirende Flüssigkeiten permeabel ist.* Ist demnach in der alkalischen Färbelösung die Tinction eingetreten, so sind ausser den Bacillen auch die Kerne, Protoplasma, Grundsubstanz etc. tingirt, so dass die Bacillen selbst versteckt bleiben. Bringt man aber dann das Präparat in Säure, so wird die Farbe aus sämmtlichen übrigen Partien, auch aus event. sonstigen im Präparat enthaltenen Microorganismen, herausgezogen, da die Säure eine sehr starke Verwandtschaft zu dem Farbstoffe besitzt; *in die Bacillen indessen kann die Säure nicht eindringen, da die präsumirte Hülle derselben für Säuren undurchgängig ist; daher bleiben die Bacillen in dem sonst vollständig entfärbten Präparat als die einzigen gefärbten Körper übrig und heben sich so in deutlichster Weise hervor.*

Ob diese Hypothese der für Säuren und neutrale Lösungen impermeablen, für alkalische Lösungen durchgängigen Hülle der Bacillen richtig ist, muss die Zukunft lehren; jedenfalls erklärt sie bis jetzt die meisten der bekannten Erscheinungen und hat zu der Entdeckung einer Methode geführt, durch welche die Tuberkelbacillen und zwar nur diese, in Geweben und Flüssigkeiten intensiv gefärbt werden.

Die Richtigkeit der *Ehrlich*'schen Hypothese ist von *Ziehl* in Abrede gestellt worden; es gelang ihm, auch durch Zusatz von Phenol (welche Substanz meist als Säure fungirt) zu den Anilinfarben die Färbung der Tuberkelbacillen zu erreichen. Weiterhin wurde dann von *Lichtheim*,*) *Giacomi* u. A. angegeben, dass einfach wässerige Lösungen von Gentianaviolet und Fuchsin genügen, um in genügend langer Zeit (bei Erwärmung auch rasch) die Tuberkelbacillen zu färben, allerdings nicht ganz so intensiv, wie nach der *Ehrlich*'schen Methode. Weiterhin sind dann eine grosse

Zahl neuer „Methoden" zur Färbung der Tuberkelbacillen publicirt worden, dieselben sind aber sämmtlich, soweit sie zuverlässig sind, nur mehr oder minder unerhebliche Modificationen der Ehrlich'schen Methode. Da die letztere, soweit bis jetzt bekannt, vollkommen zuverlässig ist und von keiner andern übertroffen wird, so beschränken wir uns auf eine genaue Mittheilung dieses Verfahrens, welches auch von Koch*) sofort acceptirt worden ist. Wir selbst haben niemals Grund dazu gehabt, von diesem Verfahren abzugehen; die Aufzählung der anderen publicirten sogen. Methoden wäre sehr ermüdend und ohne wesentlichen practischen Werth.

Als Grundsätze sind folgende festzuhalten: Während die meisten andern Schizomyceten durch Gentianaviolett, Fuchsin, Bismarckbraun etc. in wässerigen Lösungen rasch und intensiv gefärbt werden, gelingt dies bei den Tuberkelbacillen nicht; wir brauchen hier langdauernde Einwirkung des Farbstoffs (scilicet bei Zimmerwärme). Mit Bismarckbraun ist es überhaupt bisher nicht gelungen, intensive Färbungen der Tuberkelbacillen zu erreichen; wir verwenden Gentianaviolett oder Fuchsin. Als Lösungsmittel benutzen wir Anilinwasser, d. h. eine gesättigte Lösung von Anilin in Wasser. Ist die Färbung eingetreten, so behandeln wir das Präparat mit Mineralsäuren, Salzsäure oder Salpetersäure u. zw. in wässeriger oder alcoholischer Lösung. Diejenigen Bacillen, welche nach der Behandlung mit starken Mineralsäuren ihre Farbe behalten, sind als Tuberkelbacillen anzusehen. Die Eigenschaft, in starken Säuren die Färbung festzuhalten, ist für die Tuberkelbacillen vollkommen charakteristisch; wir können nur rathen, die Diagnose auf Tuberkelbacillen erst dann für sichergestellt zu erachten, wenn die Färbung nach der Säurebehandlung erhalten geblieben ist. Die Säurebehandlung aus Bequemlichkeit wegzulassen, halte ich für durchaus unerlaubt. In richtig hergestellten Präparaten müssen alle andern Gewebsbestandtheile vollständig entfärbt sein, ebenso die eventuell in den Präparaten vorhandenen anderweitigen Schizomyceten, so dass bei vollständiger Auslöschung des Structurbildes (d. h. bei voller Abbé'scher Beleuchtung) ganz allein die Tuberkelbacillen in dem Gesichtsfelde übrig bleiben. Um die Einstellung zu erleichtern, sowie um die Lagerungsverhältnisse der Tuberkelbacillen in den Geweben deutlich zu machen, kann man ausserdem noch eine Kernfärbung mit einer möglichst contrastirenden Farbe in der bekannten Weise bewirken.

Die Ausführung der Methode findet dann folgendermaassen statt:

Die Herstellung der Farblösung, Gentianaviolett in Anilinwasser, ist bereits oben, S. 49, genau beschrieben worden. Anstatt Gentianaviolett kann man auch Fuchsin oder verschiedene andere Anilinfarben wählen, (Magdala, Dahlia, Methylviolett, Magenta etc.). Es ist gleichgültig, ob

*) Vgl. Mittheilungen aus dem k. Gesundheitsamt, Bd. 2, 1884.

der Farbstoff in Substanz oder in concentrirter alcoholischer Lösung dem Anilinwasser zugesetzt wird. Von dieser Lösung, die man sich wochenlang vorräthig halten kann (das Anilinwasser selbst zersetzt sich im Licht ziemlich rasch), wird in ein Uhrschälchen 10—20 Tropfen oder mehr abfiltrirt; in das Schälchen wird der zu untersuchende Schnitt oder das Deckgläschen (vgl. S. 78) für etwa 24 Stunden eingelegt. Dann kommt der intensiv gefärbte Schnitt resp. das Deckglas in ein Schälchen mit destillirtem Wasser zur Abspülung, von da in eine Lösung von 3 Thl. Salpetersäure, 100 Thl. Alcohol, wiederum im Uhrschälchen. In kürzester Zeit, spätestens in 3—5 Minuten, ist die Entfärbung bis zu dem gewünschten Grade geschehen, das Präparat kommt in reinen Alcohol und wird in Nelkenöl untersucht; die Deckglaspräparate können ebensogut in Wasser abgespült und direct in Wasser untersucht werden.

Wünscht man eine Doppelfärbung, so wendet man für blaugefärbte Präparate Bismarckbraun, für rothe dagegen Methylenblau etc. an; es ist zu beachten, dass die Kernfärbung nicht zu intensiv genommen werden darf, damit die Tuberkelbacillen nicht zu sehr verdeckt werden.

Die Entfärbung kann auch mit wässeriger Lösung der Salpetersäure vorgenommen werden, diese muss indessen bedeutend stärker sein, etwa 1 : 3, um in derselben Zeit zu wirken; wir ziehen die dünnere alcoholische Lösung vor, da sie die Metallinstrumente nicht angreift. Ist die Entfärbung nicht vollständig gewesen, so tritt nach dem Abspülen der Säure ein Theil der früheren Farbe wieder hervor; dieser Rest wird dann durch combinirte nochmalige Wirkung der Säure und des Alcohols leicht entfernt. Dagegen persistirt die Färbung der Tuberkelbacillen auch bei mehr als viertelstündiger Einwirkung des Säuregemisches.

Eine wesentliche Verbesserung der Methode verdanken wir Rindfleisch, nämlich die Schnellfärbung in der Wärme. Wir bringen das mit der Farblösung gefüllte Schälchen, welches die Präparate enthält, in einen Thermostaten der auf 60—80° C. eingestellt ist, oder ganz einfach über eine Spiritusflamme resp. eine kleine Gasflamme und erhitzen es, bis reichliche Dämpfe entstehen, dann tritt die Tuberkelbacillen-Färbung in wenigen Minuten ein. Besonders für Deckglaspräparate (Sputa) hat dieses Verfahren rasch allgemeine Verbreitung gefunden; für Schnitte ist es weniger zu empfehlen. Die weitere Behandlung, Entfärbung, event. Doppelfärbung findet dann in gewöhnlicher Weise bei Zimmertemperatur statt.

Schon bei 300maliger Vergrösserung, oft sogar ohne Anwendung von Immersionslinsen, sind die Bacillen der Tuberculose auf diese Weise zu sehen. Jedenfalls sind indessen die besten Linsen erforderlich, um in schwierigeren Fällen die feinen Bacillen, die vielleicht recht versteckt liegen, zu Gesicht zu bekommen. Ein sicheres Urtheil über die Abwesenheit der Bacillen in einem Präparat, das oft von

folgenschwerer Bedeutung sein kann, wird der vorsichtige Beobachter nur dann abgeben, wenn er die besten vorhandenen optischen Hilfsmittel erschöpft hat; andernfalls würden grobe Irrthümer nicht ausbleiben, es existiren bereits viele dem entsprechende Erfahrungen. Wer demnach Untersuchungen auf Tuberkelbacillen zu diagnostischen Zwecken vornehmen will, muss nothwendig einen Abbé'schen Beleuchtungsapparat und eine starke Immersionslinse, möglichst Oelimmersion, zur Verfügung haben.

Leider sind die Präparate meist nicht haltbar; innerhalb einiger Monate, oft noch rascher, pflegt die Färbung der Bacillen abzublassen oder ganz verloren zu gehen.

Auch ohne Färbung kann man die Tuberkelbacillen nachweisen. Baumgarten hat sie bei Impftuberculose der Thiere, später auch beim Menschen, durch Behandlung der Schnitte durch Kalilauge constatirt, schon ehe er die Resultate Koch's kannte.

In der That gelingt es, in vielen Fällen von Tuberculose die Bacillen auf diesem einfachen Wege nachzuweisen; indessen werden wir doch nothwendiger Weise jedesmal die Koch'sche Färbung (mit der Ehrlich-schen Modification) vornehmen müssen. Denn erst dadurch erhalten wir darüber Aufschluss, ob wir es wirklich mit Tuberkelbacillen zu thun haben, da ja, wie erwähnt, die andern Bacillenarten, mit alleiniger Ausnahme der Leprabacillen, dieses specifische Verhalten gegen die Färbungsmethode nicht zeigen. Ausserdem ist es nicht zu bezweifeln, dass uns in vielen Fällen, wo die Bacillen spärlich sind. das Auffinden der Bacillen durch die intensive Färbung derselben, wesentlich erleichtert resp. ermöglicht wird. Z. B. in den Tuberkeln der fungösen Gelenkentzündung werden wir durch die Kalimethode wohl nur selten die vereinzelten Bacillen zu Gesicht bekommen, wogegen wir mit der Färbung auch hier fast stets reussiren. Vollends bei Untersuchungen zu diagnostischen Zwecken (Sputa, Eiter etc.) werden wir die Färbungsmethode niemals entbehren können.

Die gefärbten Tuberkelbacillen zeigen häufig Unterbrechungen durch helle, ungefärbte Partien von runder oder ovaler Form, welche als Sporen angesehen werden.

16. Die edlen Metalle.

a. Silber.

Die von v. Recklinghausen eingeführte „Silbermethode" ist für die normale Histologie von grossem Werthe; die wichtige Entdeckung, dass die Wandungen der Lymph- und Blutcapillaren, die man früher für homogen hielt, aus endothelialen Zellen zusammengesetzt sind, wurde bekanntlich durch die Silbermethode ermöglicht; noch heute ist sie für die Demonstration dieser Thatsache fast unentbehrlich. Für unsere Zwecke

kommt sie nur selten zur Anwendung; am einfachsten liegt der Fall, wenn es sich um Constatirung eines endothelialen Ueberzuges an einer vorliegenden Fläche handelt, schwieriger ist es schon, wenn pathologische Veränderungen der Wände der Blut- oder Lymphgefässcapillaren studirt werden sollen.

Die Schwierigkeiten der Methode liegen darin, dass das angewandte Silbersalz, gewöhnlich das Nitrat, mit den eiweisshaltigen Körperflüssigkeiten körnige und fädige Gerinnungen giebt, die von sehr unregelmässiger Gestalt sind und leicht Trugbilder erzeugen können; wogegen wir das Bestreben haben, den Silberniederschlag nur allein an den Kittleisten der Endothelzellen eintreten zu lassen. Wir können die Silbermethode daher fast nur an natürlichen Oberflächen anwenden; die Wirkung des Silbersalzes dringt nur sehr wenig in die Tiefe der Gewebe ein.

Man benutzt am besten sehr dünne Lösungen, 1 : 500; die Oberfläche wird, wenn nöthig, mit destillirtem Wasser oder mit einer dünnen Lösung von salpetersaurem Natron (2%) abgespült, dann mit der Silberlösung übergossen, nach etwa einer Minute dann wieder mit destillirtem Wasser abgewaschen. Nach kurzer Zeit, am raschesten unter Wirkung des Sonnenlichtes, treten nun event. an den Grenzen der Endothelzellen dunkelschwarze Linien auf; die Kerne sind gewöhnlich nicht markirt, sie können nachträglich mit Haematoxylin etc. gefärbt werden. Der Silberniederschlag wird durch verdünntes Ammoniak leicht gelöst.

Um die Grenzen der Endothelzellen in den Blutcapillaren zu markiren, wird das Silbersalz von der Arterie aus injicirt; bei Einspritzung der Silberlösung in den Bronchialbaum erhält man eine Färbung der Zellgrenzen des Lungenalveolarepithels. Wenn man der Silberlösung etwa 5% Gelatine (in der Wärme) zusetzt, so erhält man den zu Injectionen ebenfalls sehr brauchbaren „Silberleim", der die Zellgrenzen der injicirten Hohlräume braun färbt.

Wird eine Cornea kurze Zeit in Silberlösung gebracht, oder auch mit dem Lapisstift überstrichen, so kommt dann eine dunkle Braunfärbung der Grundsubstanz zu Stande, innerhalb deren die Corneakörperchen als helle strahlige Figuren, wie Lücken, hervortreten.

Jedenfalls ist zu bemerken, dass die Silbermethode nur an frischen Präparaten, bei denen cadaveröse Zersetzungen noch nicht eingetreten sind, anwendbar ist.

b. Gold.

Auch die von Cohnheim eingeführte Chlorgold-Methode zeigt ähnliche Schwierigkeiten; auch dieses Reagens dringt nur wenig in die Tiefe ein und hat ausserdem den Nachtheil, dass seine Wirkungen nicht ganz constant sind; die Bedingungen, unter denen die Reduction des Salzes und

damit die Färbung eintritt, sind uns eben noch nicht genau bekannt. Dagegen sind gut gelungene Goldpräparate wegen der höchst präcisen Zeichnung von sehr grossem Werth, so dass man, besonders bei experimentellen Arbeiten an der Cornea, Keratitis, Reproduction etc. diese Methode nicht entbehren kann.

Die Vorzüge der Goldmethode bestehen darin, dass

1) das Protoplasma der Zellen, besonders in der Cornea, intensiv dunkel gefärbt wird und sich so von der vollständig hellen Grundsubstanz sehr scharf absetzt;

2) die Axencylinder der Nervenfasern isolirt gefärbt werden.

Man verwendet verschiedene Lösungen des Chlorgold, von 1:100 bis 1:1000; die Cornea, resp. die sonstigen zu färbenden Lamellen (das Reagens dringt ebenfalls nur in die oberflächlichen Partien des Präparates ein) werden 10 Minuten bis eine Stunde in der Lösung belassen; sie nehmen darin eine strohgelbe Färbung an und kommen dann für längere Zeit, etwa 24 Stunden, in eine dünne Säure (Essigsäure, Ameisensäure, Weinsäure, Citronensäure), Ranvier wendet neuerdings Citronensaft an. Dann ist die Reduction entweder geschehen, oder sie tritt erst weiterhin im Laufe von Tagen, während deren das Präparat in Alcohol, Glycerin etc. aufbewahrt wird, vollständig ein. Die Farbe wird dabei dunkelviolett. Das Präparat gewinnt schon durch das Goldsalz eine derbe Consistenz, um es in feinste Schnitte zu zerlegen, kann man es in Alcohol noch weiter härten.

Auch zur Färbung von Schnitten des Nervensystems, die nach der gewöhnlichen Behandlung mit Müller'scher Lösung etc. gewonnen werden, kann das Goldchlorid verwendet werden (Leber); die Schnitte werden etwa eine Stunde lang in eine halbprocentige Lösung eingebracht, dann in destillirtes Wasser und zeigen nach ein bis zwei Tagen eine dunkelviolette Färbung derjenigen Partien, die normales Nervenmark enthalten. Die Methode ist demnach zum Nachweise von Degenerationen und Atrophien in peripheren Nerven und in der weissen Substanz der Centralorgane sehr brauchbar.

Um an Alcoholpräparaten die Nerven mit Gold zu färben, empfiehlt Frisch folgende Methode: Die Schnitte werden in Wasser ausgewaschen, kommen 24 Stunden lang in NaCl-Lösung von 0,6 %, dann 10 Minuten lang in 10 % Ameisensäure; dann gut ausgewaschen in 1 % Goldchloridnatriumlösung und zwar vor Licht geschützt, durch $^1/_2$—3 Stunden. Dann wieder ausgewaschen und in 10 % Ameisensäure durch 24 Stunden.

c. Osmiumsäure.

Dieses von Max Schulze zuerst verwendete Reagens hat eine sehr vielfache Anwendung gefunden; es dient 1) zur Fixation und Härtung von

zarten Gewebselementen in annähernd natürlicher Gestalt, 2) zur Hervorhebung resp. Färbung der Fette, mit Einschluss des Nervenmarks.

Auch die Lösung der Osmiumsäure dringt nur in die oberflächlichen Schichten der Präparate ein.

Man benutzt eine Lösung von 0,1 % bis 1 %; es ist zu bemerken, dass die Osmiumdämpfe auf die Conjunctiva und Nasenschleimhaut einen sehr heftigen Reiz ausüben.

Die Lösung der Osmiumsäure wird ebenso wie die des Goldchlorids und des salpetersauren Silbers in braunen Flaschen aufbewahrt.

Kleine Gewebsstücke, die im frischen Zustande für kurze Zeit, etwa eine Stunde, in dünne Osmiumlösungen eingelegt und dann in Glycerin aufbewahrt werden, geben oft sehr gute Isolationen der zelligen und faserigen Elemente, welche durch den Einfluss des Reagens neben der leicht braunen Färbung zugleich eine gewisse Resistenz erhalten haben. Diese Methode ist besonders für das Nervensystem zu empfehlen; das Nervenmark wird dabei dunkelblau bis schwarz. Auch die rothen Blutkörperchen werden durch Osmium gebräunt und sind dann für die meisten Einwirkungen sehr widerstandsfähig, schon die sich bei Zimmertemperatur entwickelnden Osmiumdämpfe haben diese Wirkung; man bringt zu diesem Zwecke das im hängenden Tropfen auf der unteren Fläche des Objectträgers befindliche Präparat über den Hals einer mit Osmiumsäure gefüllten Flasche.

Wirkt die Osmiumsäure intensiver und längere Zeit hindurch ein, so werden kleine Gewebsstücke, Nerven etc. gehärtet.

Die verschiedenen Fette, ebenso das Nervenmark, werden durch die Osmiumsäure in wenigen Minuten tief schwarzblau gefärbt durch Reduction des Metalls, wie allgemein angegeben wird; wahrscheinlich liegt hier eine besondere Verbindung vor. Diese eminent frappante Färbung ist als die beste Farbenreaction der Fette für uns von grossem Werthe.

Auch an Schnitten, die von Alcoholpräparaten entnommen worden sind, lässt sich die Reaction noch sehr gut anstellen; der Theil des Fettes, der durch den Alcohol nicht gelöst ist, wird binnen einer Viertelstunde dunkelbraun gefärbt.

Um demonstrative Dauerpräparate von Verfettungen in Niere, Leber, Herz, Granulationsgewebe, Tumoren etc. herzustellen, kann die Osmium-Methode dringend empfohlen werden. Die Präparate sind in Glycerin zu conserviren.

17. Schwefelammonium.

(Siderosis.)

Schwefelammonium in wässeriger Lösung ist von Quincke*) als ein Reagens auf Eisen bei pathologischen, histologischen Untersuchungen in ausgedehntem Maasse verwendet worden; das in Form von Eisenalbuminat im Innern der Zellen enthaltene Eisen wird durch das Schwefelammonium in schwarzgrünen Körnern (Schwefeleisen) ausgefällt. Oft erkennt man die eisenhaltigen Körner schon vor der Wirkung des Reagens an ihrer gelbbraunen Farbe; indessen ist das nicht nothwendig und andererseits geben nicht alle gelben Pigmentkörner die schwarzgrüne Färbung mit dem Reagens. Das früher zum microchemischen Nachweis des Eisens verwendete Reagens, Ferrocyankalium mit Salzsäure, ist weniger günstig, weil dasselbe die Eiweisskörper coagulirt und ausserdem leicht diffuse Färbungen giebt; das gebildete Berlinerblau ist in der eiweisshaltigen, sauren Flüssigkeit doch nicht ganz unlöslich. Die schwarzgrüne Färbung der eisenhaltigen Körner mit Schwefelammonium tritt an Schnitten von Alcoholpräparaten in wenigen Minuten ein und bleibt wochenlang erhalten.

Die normalen rothen Blutkörperchen geben die Reaction nicht, woraus zu entnehmen ist, dass das Eisen nicht aus jeder Verbindung durch das Schwefelammonium ausgefällt wird; dagegen giebt Quincke an, dass in der Leber, besoders aber in Milz und Knochenmark, schon in der Norm „Siderosis“, d. h. durch NH_4S nachweisbare eisenhaltige Körnchen vorkommen, welche von zerfallenen rothen Blutkörpern abgeleitet werden müssen. In Folge von Transfusionen, sogen. künstlicher Plethora, steigert sich der Zerfall der rothen Blutkörper sehr erheblich, demgemäss findet sich dann auch eine sehr erhebliche Vermehrung der physiologischen Siderosis; die Eisenkörnchen sind in der Leber im Innern von weissen Blutkörperchen in den Capillaren enthalten; in der Milz und im Knochenmark liegen sie innerhalb der Pulpazellen. Ebenso findet sich eine sehr reichliche Siderosis bei den analogen Zuständen des Menschen, d. h. in Fällen, in denen ein reichlicher Zerfall der rothen Blutkörperchen stattfindet, besonders bei der perniciösen Anämie; hier ist das Eisen in den Leberzellen und in den Lebercapillaren, auch im perivasculären Bindewebe der Leber, in den Drüsenzellen des Pancreas, in den Epithelien einzelner gewundener Harncanälchen, ausserdem auch in Milz und Knochenmark nachweisbar.

---

*) Quincke, über Siderosis, D. Arch. f. klin. Med. Bd. 25.

IV. Anderweitige Vorbereitungsmethoden.

Conservirung der Präparate.

Ein grosser Theil der Präparationsmethoden ist in dem letzten Abschnitt bereits besprochen worden, das Erhärten durch Alcohol und chromsaure Salze, das Entkalken durch Mineralsäuren findet sich bei diesen Reagentien erörtert. Es erübrigt noch eine kurze Darstellung einiger besonderer Methoden.

1. Das Kochen.

Schon früher wurde zuweilen das Kochen der anatomischen Präparate zum Zwecke histologischer Untersuchungen geübt, indessen wurde die Methode in zielbewusster Weise zuerst durch Posner*) (nach einer von dem verstorbenen Perls ausgegangenen Anregung) angewendet und zwar besonders zu dem Zwecke, das gelöste Eiweiss rasch und sicher in loco niederzuschlagen und dadurch kenntlich zu machen.

Die Stücke der Organe, von etwa Haselnuss- bis Wallnuss-Grösse werden in kochendes Wasser geworfen, nach einigen Minuten herausgenommen und in kaltem Wasser abgespült; gewöhnlich haben sie dann eine mässig derbe, elastische Consistenz angenommen und können mit dem Rasirmesser direct geschnitten werden, oder aber sie kommen zur vollständigen Erhärtung noch in Alcohol. Das geronnene Eiweiss tritt als eine grobkörnige Masse an solchen Präparaten sofort zur Erscheinung; ausserdem sind die meisten Conturen der Zellen etc. auffallend scharf und starr geworden.

Die Methode hat besondere Vorzüge für die Untersuchung der Nieren bei Albuminurie und von Lungenödem. Werden derartige Organe nur in Alcohol gehärtet, so gelingt es zwar auch, das körnig coagulirte Eiweiss innerhalb der Malpighi'schen Kapseln resp. der Alveolen nachzuweisen; besonders in den oberflächlichen Theilen des Präparats, die der Einwirkung des Alcohols am directesten ausgesetzt waren; indessen geschieht dies viel vollständiger mittelst der Kochmethode, durch welche eine prompte und vollständige Coagulation in kürzester Zeit erzielt wird. Abgesehen von dieser Wirkung werden die meisten Structuren durch kurzdauernde Einwirkung der Kochhitze nur wenig verändert.

Man kann auch die gekochten Präparate dann mit dem Gefrier-Microtom schneiden.

---

*) Posner, Virch. Arch. Bd. 79, S. 311.

2. Das Trocknen

der Präparate wurde früher vielfach zu dem Zwecke vorgenommen, um dieselben gut schnittfähig zu machen. Seitdem die Technik der Alcoholhärtung, event. bei porösen oder besonders weichen Gegenstände nach vorheriger Imbitition mit Gummischleim, allgemein eingeführt ist, wird das Trocknen fast gar nicht mehr geübt; die Präparate schrumpfen dabei sehr stark ein, die Schnitte quellen dann im Wasser wieder an, indessen durchaus unregelmässig.

Zum Zwecke der Maceration resp. der Isolirung gewisser Gewebsbestandtheile dient die

3. Künstliche Verdauung,

welche zuweilen auch für pathologische Untersuchungen, viel mehr allerdings in der normalen Histologie, Anwendung findet. Man benutzt Pepsin oder Thrypsin, sogen. künstlichen Magensaft oder Pancreasextract.

Künstlichen Magensaft bereitet man am besten aus dem Fundustheil der Schleimhaut des Schweinemagens; die Schleimhautstücke werden fein zerschnitten und etwa eine Stunde lang mit stark verdünnter Salzsäure, 1 pro mille, im Brütofen bei Körpertemperatur, ausgezogen; dann wird filtrirt. Man kann auch käufliches Pepsin benutzen; jedenfalls muss man die verdauende Wirkung der Flüssigkeit an einer Fibrinflocke oder einem Stückchen von locker geronnenem Eiweiss prüfen; diese müssen in kurzer Zeit aufgelöst sein.

Das Extract des Pancreas*) wird folgendermaassen gewonnen:

Das Pancreas eines frisch getödteten Rindes wird in Stücke zerschnitten und mit Alcohol und Aether im Extractionsapparat vollständig erschöpft; die nach dem Abdunsten des Aethers zurückbleibende weisse, leicht zerreibliche Masse wird mit 5—10 Gewichstheilen Salicylsäure von 0,1 % oder auch mit destill. Wasser bei 40° C. etwa vier Stunden lang digerirt, dann colirt und filtrirt.

Der künstliche Magensaft verdaut in kurzer Zeit (bei Körpertemperatur) das Bindegewebe, die Muskelsubstanz, die meisten zelligen Elemente etc., während das elastische Gewebe, die Nervenfasern, resistiren.

Das Pancreasextract dagegen, resp. das darin enthaltene Thrypsin löst in saurer Lösung die elastischen Fasern, ebenso die feinen Fäserchen der Neuroglia, dagegen bleiben die Bindegewebsfibrillen intact.

---

*) Kuehne, in Verhandl. des medic.-naturf. Vereins zu Heidelberg I. 1877.

Die Verdauung kann entweder im Brütapparat vorgenommen werden, oder aber mittelst des erwärmbaren Objecttisches an dem microscopischen Präparat selbst unter den Augen und der fortwährenden Controle des Beobachters.

Neuerdings ist durch Anwendung dieser Methode eruirt worden, dass die bei der Tabes in den Hintersträngen des Rückenmarks in grosser Menge auftretende graue, feinfaserige Substanz in der That auch chemisch mit den Fasern der Neuroglia vollständig übereinstimmt; auch sie wird schnell gelöst, während die Fasern der Pia und ihrer Fortsetzungen intact bleiben. (Waldstein und Weber*). Das von Kuehne sogenannte Neurokeratin resistirt der Thrypsinverdauung vollständig; es bleibt im Innern der Nervenfasern zurück, wenn dieselben mit heissem Aether und Chloroform, dann mit Thrypsin extrahirt werden, und zwar in Form von feinen Netzen. Die Horn-Netze wurden von Kuehne und vielen seiner Nachfolger als eine präformirte Structur, ein „Horngerüst der Nervenfasern" angesehen; gegen diese Ansicht sprechen sich Hesse und Pertik; neuestens auch Waldstein und Weber (Schüler von Ravier) aus.

Diese Autoren behaupten, dass das Neurokeratin ganz diffuse mit dem Nervenmark vermengt sei und erst durch die Extractionsmethoden die eigenthümliche netzartige Structur annehme; je nach Variirung der Methode kann man auch die Form der Netze willkürlich variiren. Auch an den unregelmässig gestalteten Tropfen des ausgetretenen Nervenmarks (Myelintropfen) kann man durch die entsprechende Behandlung dieselben „Hornnetze" wie im Innern der Nervenfasern darstellen.

In degenerirten Nerven, ebenso wie bei grauer Degeneration der weissen Substanz des Central-Nervensystems geht das Neurokeratin verloren.

4. Die Einbettung.

Die meisten unserer gehärteten Präparate schneiden wir ohne Einbettung; bei Besprechung des Microtoms haben wir auf die kleinen Kunstgriffe des Aufklebens der Präparate auf Kork und des Einklemmens zwischen gehärtete Leberstückchen hingewiesen; hierdurch sind wir in den meisten Fällen in den Stand gesetzt, die Präparate ohne weitere Einbettung genügend zu fixiren, um vollständige und gleichmässige Schnitte derselben zu erhalten. Haben wir eine unregelmässige Oberfläche zu schneiden und liegt es uns daran, den Nachweis zu führen, dass die Schnitte die Oberfläche selbst mit enthalten, z. B. bei Untersuchung einer menstruirenden Uterusschleimhaut, so bringen wir auf die in Frage stehende Oberfläche

---

*) Waldstein et Weber, Arch. de physiol. norm. et pathol. II. Reihe Bd. 10 1882. S. 1.

des gehärteten Präparats eine dünne Schicht Gummischleim und auf diese dann eine Platte gehärteter Leber. Im Alcohol wird der Gummi bald fest, so dass wir eine sichere Verbindung zwischen Leber und Oberfläche des Präparats erhalten. Sind die Unebenheiten der Oberfläche grösser, so ist der Gummischleim weniger vortheilhaft, da das Gummi in dickeren Schichten steinhart wird und das Messer schädigt; wir nehmen dann nach dem Vorgange von Klebs Glycerinleim. Derselbe wird folgendermaassen hergestellt: 10 Grm. feinste, gut abgewaschene Gelatine lässt man in destillirtem Wasser aufquellen, der Rest des Wassers wird abgegossen und der gequollene Leim durch gelindes Erwärmen gelöst, dazu fügt man dann 10 Grm. Glycerin, ausserdem einige Tropfen Phenol zur Verhütung der Schimmelpilze. Von dieser bei Zimmertemperatur erstarrenden Masse kann man bei jedesmaligem Gebrauch leicht eine kleine Partie durch Erwärmung auflösen und mit der Flüssigkeit die unebene Oberfläche des Präparats überziehen; im Alcohol nimmt sie dann eine passende Schnittconsistenz an.

In anderen Fällen aber sind wir genöthigt, ein Präparat in toto zu schneiden, d. h. die sämmtlichen Oberflächen derselben mit auf den Schnitt zu bekommen, eine Aufgabe, die dem Zoologen und Embryologen sehr häufig, uns dagegen nur in besonderen Fällen gestellt wird. Dann müssen wir das Präparat mit einer erstarrenden Masse rings umgiessen; man kann auch hierzu Glycerinleim benutzen, indessen ist es besser, eine Substanz anzuwenden, die beim Erstarren und auch bei Behandlung mit Alcohol nicht schrumpft. Z. B. eine Mischung von Wachs und Oel zu gleichen Theilen, oder 2 Theile Wallrath, 1 Theil Ol. Bergamottae oder

5 Thl. Paraffin
2 Thl. Wallrath
1 Thl. Schmalz

bei mässiger Erwärmung ist das Gemisch flüssig, umgiebt dann das in Alcohol gehärtete Präparat, welches in eine nach der Microtomklammer passend geformte Blechhülse gebracht worden ist und wird beim Abkühlen und nochmaligen Aufenthalt in Alcohol wieder fest. Wollen wir die Fettmasse in das Präparat selbst eindringen lassen, so muss dasselbe natürlich vollständig entwässert sein, gewöhnlich lässt man es zuerst von einem ätherischen Oel, etwa Ol. Bergamottae, durchziehen, ehe es mit der Fettmasse durchtränkt wird. Die Präparate erhalten auf die Weise eine höchst gleichmässige Consistenz; nachträglich wird dann das Fett aus den Schnitten wieder extrahirt. Wie man sieht, ist die Procedur etwas weitläufig; man wird sie für unsere Zwecke wohl nur äusserst selten anzuwenden haben.

Eine andere beliebte Einbettung ist die in Calberla'sche Masse*). Dieselbe besteht aus:

{ 15 Thl. Hühnereiweiss
1 Thl. 10 procentiger Lösung von kohlensaurem Natron,

dazu wird die zugehörige Dottermasse gethan und die Mischung geschüttelt. Das Object wird in ein Papierkästchen gebracht, welches in einer mit 80 procentigem Alcohol erfüllten Schale steht; die Schale wird dann auf dem Wasserbade erwärmt auf etwa 75° C.; nach etwa halbstündiger Erwärmung ist die Coagulation genügend eingetreten, dann Alcoholhärtung.

Diese Einbettungsmassen sind undurchsichtig, man muss daher an ihrer Oberfläche Zeichen anbringen, um die Lage des Präparats zu markiren.

Wohl die vorzüglichste Einbettungsmasse ist das Celloidin, dessen Einführung in die microscopische Technik wir Schieferdecker (Arch. f. Anat. 1882) verdanken. Das Celloidin ist eine Collodium-artige Substanz, welche in festen Platten verkauft wird. Das Celloidin löst sich in einer Mischung von Alcohol und Aether allmählich zu einer syrupösen Flüssigkeit; legen wir nun ein in Alcohol gehärtetes Präparat hinein, so durchtränkt die Celloidinlösung im Laufe mehrerer Stunden (event. 24) das ganze Präparat. Das mit Celloidin durchtränkte Präparat wird dann in 70 bis 80%igen Alcohol gebracht; in diesem wird das Celloidin wieder fest, so dass das Präparat eine sehr gleichmässige Schnittconsistenz erhält. Das Präparat wird dann mit dem umhüllenden (nahezu durchsichtigen) Celloidinmantel in das Microtom gebracht, jeder Schnitt ist demnach von einer Celloidinhülle umgeben und kann mit dieser gemeinschaftlich gefärbt, untersucht und conservirt werden. Als Aufhellungsmittel wenden wir hierbei nicht das Nelkenöl an (welches das Celloidin löst), sondern Origanum- oder Cedernholzöl.

Die Celloidinmethode hat sich in vielen Fällen sehr bewährt; besonders für Bulbi, Rückenmark etc. ist sie sehr zu empfehlen.

5. Das Injectionsverfahren

findet bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen viel weniger häufig Anwendung als in der Normal-Histologie.

Das Studium der natürlichen Injection der Gefässe mit Blut, sowie der Lymphgefässe mit Lymphe etc. ist für uns von höchster Bedeutung, nur selten recurriren wir zu einer künstlichen Erfüllung der

*) Caberla, Morpholog. Jahrbuch, II. 1876.

Lumina. Wir geben daher nur einen kurzen Abriss der ziemlich complicirten Injectionstechnik, indem wir den Interessenten auf die bekannten Lehrbücher von Ranvier und von Frey verweisen.

a. Injectionsmasse.

Als Injectionsmasse benutzen wir eine durchsichtige, aber intensiv gefärbte Flüssigkeit, event. eine solche, die innerhalb der Gefässe fest wird, also meist eine Leimmasse; bei Anwendung der letzteren muss die Injectionsflüssigkeit und das zu injicirende Organ auf höhere Temperatur, 40—50° C., gebracht werden.

Man benutzt hierzu grössere, event. mit Wasser gefüllte Blechwannen, die von unten her erwärmt werden.

Die Leiminjectionen sind daher etwas umständlicher, aber dafür auch wegen der Stabilität der Masse vorzüglicher, als die wässrigen Lösungen.

Zur Färbung der Masse dient lösliches Berlinerblau, das von Droguisten bezogen werden kann; zuweilen löst sich dasselbe erst nach Zusatz von etwas Oxalsäure; eine derartige Lösung in 10—20 Theilen Wasser kann direct zur Injection benutzt werden, event. mag man noch je 5 Theile Alcohol und 5 Theile Glycerin zusetzen. Oder aber man giesst die erwärmte wässrige Lösung des Berlinerblau allmählig und unter fortwährendem Umrühren in dieselbe Quantität einer ebenfalls erwärmten concentrirten Leimlösung hinein; die letztere wird so hergestellt, dass gut abgewaschene feine Gelatinetafeln in etwa der doppelten Menge destillirten Wassers bei Zimmertemperatur etwa 1—2 Stunden lang anquellen; die gequollene Leimmasse wird dann durch gelindes Erwärmen auf dem Wasserbade flüssig gemacht.

Da das „lösliche Berlinerblau" der Droguisten nicht immer zuverlässig ist, so wollen wir die genaue Vorschrift von Thiersch*) zur Selbstbereitung der Substanz hier wiedergeben:

Thiersch's Berlinerblau mit Oxalsäure.

Man bereite sich eine kalt gesättigte Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul (A), eine gleiche von Kaliameisencyanid, d. h. rothem Blutlaugensalz (B) und drittens eine gesättigte Solution der Oxalsäure (C). Endlich ist eine warme concentrirtere Lösung (2:1) feineren Leims erforderlich. Man vermischt nun in einer Porcellanschale etwa 15 Grm. der Leimlösung mit 6 Ccmtr. der Solution A. In einer zweiten grösseren Schale findet die Vereinigung von 30 Grm. Leimlösung mit 12 Ccmtr.

*) Nach Frey, das Microscop, 1881.

der Lösung B statt, wozu nachträglich noch 12 Ccmtr. der Oxalsäuresolution C kommen.

Ist die Masse in beiden Schalen auf ca. 25—32 ^{0} abgekühlt, so trägt man tropfenweise und unter beständigem Rühren den Inhalt der ersten Schale zu dem Gemisch der letzteren ein. Nach vollständiger Fällung erhitzt man unter Umrühren eine Zeit lang die gebildete tiefblaue Masse auf 70—100 ^{0} C. und filtrirt schliesslich durch Flanell.

Die mit Berlinerblau angefertigten Injectionen sind prachtvoll gefärbt, indessen geht im Laufe der Jahre die Farbe durch Reduction allmählich verloren; durch einen Ozonträger, z. B. Terpentinöl wird die blaue Farbe wieder hervorgerufen.

Carmininjectionen sind dagegen vollkommen dauerhaft; hier liegt aber die Schwierigkeit vor, dass die rothe Farbe bei Anwendung von ammoniakalischer Carminlösung sofort transsudirt: die Lösung muss daher neutralisirt werden. Die Neutralisirung muss nun mit äusserster Vorsicht geschehen, da die Masse sonst opak und durch die groben Carminniederschläge vollkommen unbrauchbar wird.

Kaltflüssige Carmininjection.

1 Grm. Carmin wird mit 1 Grm. Ammoniak und ein wenig Wasser gelöst, dazu kommen 20 Ccmtr. Glycerin. Zu dieser Lösung wird eine Mischung, die aus 20 Ccmtr. Glycerin und 1 Ccmtr. Salzsäure besteht, vorsichtig unter starkem Schütteln zugesetzt; das Ganze dann mit 40 Grm. Wasser verdünnt (Kollmann).

Carminleim nach Frey.

„Man halte sich eine Ammoniaklösung und eine solche der Essigsäure, von welchen man die zur Neutralisation erforderlichen Tropfenzahlen in leichter Weise vorher bestimmt hat. Etwa 2—2,5 Grm. feinstes Carmin werden mit einer abgezählten Tropfenmenge der Ammoniaklösung, welche man nach Belieben grösser oder kleiner nehmen kann, und etwa 15 Ccmtr. destillirtes Wasser in einer Schale unter Reiben gelöst und filtrirt, wozu einige Stunden erforderlich sind und wobei durch Verflüchtigung ein Ammoniakverlust erfolgt. In eine filtrirte, mässig erwärmte, concentrirtere Lösung feinen Leims wird die ammoniakalische Carminsolution unter Umrühren eingetragen, etwas auf dem Wasserbade erwärmt und darauf die zur Neutralisation der ursprünglich benutzten Ammoniaklösung erforderliche Tropfenzahl der Essigsäure langsam und unter Umrühren hinzugegeben. Man erhält so die Ausfällung des Carmins in saurer Leimlösung.“

Bei Injection von Organen, die stärker alkalisch reagiren, kann der Masse noch eine kleine Menge Essigsäure zugesetzt werden. Die Erwärmung während der Injection darf nicht über 45° C. steigen.

Neuerdings werden ausserdem, namentlich zur Injection der feinsten Lymphbahnen, noch andere Injectionsmassen verwendet, so z. B. ölige Flüssigkeiten, die mit Alkanna gefärbt sind, gewöhnlich Terpentinöl; andrerseits auch Chloroform, in welchem ein dunkler Harzkörper, etwa Asphalt, gelöst ist.

b. Injectionsapparat.

Man benutzt oft eine Injectionsspritze, die gut schliessen muss und nach dem Gebrauch sehr sorgfältig gereinigt wird; die Spritze wird entweder direct, oder durch einen Kautschukschlauch mit der Canüle verbunden. Die Spritze nebst den Canülen sind von Metall oder von Glas; die letzteren kann man sich selbst sehr leicht in jeder gewünschten Form herstellen. Der Stempel der Spritze muss nicht gar zu stramm sitzen und ohne jeden Ruck, ganz gleichmässig vorgeschoben werden.

Etwas complicirter, indessen sehr empfehlenswerth ist es, die Injection unter constantem Druck vorzunehmen. Wenn man zu diesem Zwecke nicht die grosse Hering'sche Maschine zur Verfügung hat, so kann man sich leicht mittelst einiger Spritzflaschen und Kautschukschläuche den nöthigen Apparat zusammenstellen. Die Flaschen sind durch einen doppelt durchbohrten Kautschukpfropf verschlossen, der in der üblichen Weise mit zwei Glasröhren armirt ist, von denen die eine kurze dicht unter dem Pfropf endet, die andere lange bis auf den Boden der Flasche herabreicht. Die eine der Flaschen, A, wird mit der Injectionsflüssigkeit grösstentheils erfüllt; das in die Flüssigkeit eintauchende lange Glasrohr steht an seinem andern Ende mit der Injectionscanüle in Verbindung. Das andere kurze Glasrohr wird mit der zweiten Flasche B verbunden, welche als Windkessel dient und zu Anfang nur Luft enthält. Diese zweite Flasche steht dann wiederum durch einen langen Kautschukschlauch und das bis nahe an den Boden herabreichende Glasrohr in Verbindung mit einem Druckgefäss C., welches beliebig erhöht werden kann (durch untergelegte Klötze etc.) und mit Quecksilber erfüllt ist. Lässt man nun das Quecksilber aus dem Druckgefäss C in die den Windkessel darstellende Flasche B einfliessen, so wird der Luftraum in B unter den der Niveaudifferenz des Quecksilbers entsprechenden Druck gesetzt; dieser Druck wird sofort auf die in der Flasche A enthaltene Injectionsflüssigkeit übertragen und unter diesem Druck wird die letztere in das betr. Lumen hineingetrieben. Sorgt man nun dafür, dass die Niveaudifferenz des Quecksilbers dieselbe bleibt, indem man die Druckflasche C nach Maassgabe der

allmählich ausströmenden Flüssigkeit erhöht, so bleibt der Injectionsdruck constant. Hat man eine Wasserleitung mit Trommelgebläse zur Disposition, so kann man die Druckflasche hierdurch ersetzen.

Das Druckgefäss kann anstatt mit Quecksilber auch mit Wasser gefüllt werden; zur Erzielung eines grösseren Druckes wird es etwa auf einen Schrank etc. postirt. Selbstverständlich müssen die sämmtlichen Verbindungen luftdicht und correct schliessen.

Die in das Gefäss eingebundene Canüle wird mit der Injectionsmasse oder auch zur Vermeidung von Verunreinigungen mit destillirtem Wasser erfüllt und ohne dass eine Luftblase dazwischen tritt, mit der Spritze resp. dem Injectionsapparat verbunden; dann kann die Injection beginnen. Auch weiterhin darf der Strom der Injectionsflüssigkeit nirgends durch Luftblasen unterbrochen werden; bei sorgfältiger Ausführung der Vorbereitungen sind die Luftblasen sicher zu vermeiden.

Ist die Injection dann im Gange, so kommt es leicht zum Austritt der Injectionsmasse aus Seitenästen oder Collateralen; besonders wenn es sich um Organe oder Organtheile handelt, die bei der Section gewonnen worden sind, ohne dass vorher die Injection in Aussicht genommen war; die Lumina müssen dann unterbunden werden. Die Venenlumina bleiben am besten zu Anfang offen, damit sich event. das Blut entleeren kann; vor der Beendigung der Injection kann man dieselben dann ebenfalls unterbinden. Bei passender Auswahl der Arterienäste wird man auch an einer bereits durchschnittenen Niere, Lunge, Leber etc. meist noch erfolgreiche Injectionen, allerdings nur auf Abschnitte des Organs beschränkt, ausführen können. *)

Man beendet die Injection, wenn die Färbung des Organs genügend intensiv geworden ist; auch die vermehrte Consistenz giebt einen Fingerzeig dafür ab, dass man aufhöre. Nach der Injection kommen die Präparate sofort in Alcohol.

Mit Extravasaten hat man bei Injection pathologisch veränderter Organe oft genug zu kämpfen; durch Vermeidung eines zu hohen Injectionsdruckes wird man dieselben, wenigstens in vielen Fällen, hintanhalten können.

Für viele Lymphgefässinjectionen benutzt man feine Stichcanülen (die sogen. Einstichinjectionen), die vorsichtig an die betr. Stelle des Organs vorgeschoben werden; bei der Injection entsteht dann nothwendig ein „Extravasat", in der Umgebung desselben aber erhält man oft genug die schönste Lymphgefässfüllung, und zwar auf sehr einfache, rasche Weise.

---

*) Rindfleisch benutzt zu diesem Zweck dünne elastische Catheter, die tief in das Innere der Organe hinein vorgeschoben werden, als Injectionscanülen; an der Spitze derselben bringt man eine Oeffnung an.

Die Methoden der physiologischen Injection sind in den letzten Jahren besonders durch Cohnheim, Heidenhain, Arnold und Thoma u. A. in ausgezeichneter Weise vervollkommnet und erweitert worden; sie haben für viele pathologische Fragen, besonders für die Nieren, eine grosse Bedeutung erlangt. Sie kommen indessen nur bei experimentellen Untersuchungen in Betracht; wir müssen es uns daher versagen, hier auf dieselben einzugehen.

6. Conservirung der Präparate.

Um frische Präparate, die in Kochsalzlösung liegen, für einige Tage zu conserviren, hat man sie nur in einen feuchten Raum zu bringen; dieser wird sehr leicht in folgender Weise hergestellt: Eine grosse flache Glasschale wird einige Millimeter hoch mit Wasser erfüllt; in der Schale steht auf drei Füssen (etwa auf drei mit Siegellak angekitteten Korkstöpseln) eine etwas kleinere Glasplatte, welche die Präparate trägt; über dieselbe wird dann eine Glasglocke gestülpt, die an ihrer Innenseite mit feuchtem Fliesspapier ausgekleidet wird; hierdurch wird der Raum, in welchem die Präparate aufbewahrt werden, abgeschlossen und genügend feucht erhalten. Anstatt der Glasplatte kann man eine hölzerne oder metallene Etagère benutzen, in welcher die Präparate in mehreren Schichten übereinander liegen, ohne sich zu berühren, oder man kann mehrere derartige Glasplatten, resp. Glastischchen übereinander bauen, dem Sperrwasser kann ein Antisepticum hinzugefügt werden. Für längere Zeit sind frische Präparate in ihrer vollen Zartheit nicht zu conserviren; sie in Kochsalzlösung einzukitten, führt nicht zum Ziel, da die Elemente meist schon in kurzer Zeit zerfallen; ausserdem verdunstet in den meisten Fällen das Wasser trotz sorgfältiger Verkittung. In Kali aceticum, dessen gesättigte Lösung bekanntlich luftbeständig ist, lassen sich manche Dinge erhalten, indessen geht auch hier viel von der ursprünglichen Zartheit der Conturen verloren.

Meist handelt es sich um die Conservirung von Schnitten, die von Alcoholpräparaten herrühren. Liegen die Schnitte in Glycerin, so sind sie schon genügend conservirt, wir haben nur noch das Deckglas zu fixiren, damit der auf dem Deckglas sich ansammelnde Staub oder eine sonstige Verunreinigung abgewischt werden kann. Zu diesem Zwecke wird durch eine kleine, auf das Deckglas gelegte Bleikugel das überflüssige Glycerin hinausgedrängt und durch Fliesspapier aufgesogen; dann wird der Objectträger rings um das Deckglas herum sehr sorgfältig gesäubert, d. h. jede anhaftende Spur von Glycerin entfernt, am besten mittelst feiner Leinewand, die mit Alcohol befeuchtet ist. Dann wird der Rand des Deckglases mit einem erhärtenden Kitt umzogen und so auf dem Objectträger fixirt; als Kitt benutzt man z. B. Canadabalsam in Chloroform oder Asphaltlack,

Maskenlack etc.; nach einer Empfehlung von Ranvier wende ich seit langer Zeit eine dicke Lösung von gutem, rothen Siegellack in Alcohol an.

Statt des Glycerins kann man zum Einschluss der Präparate Glycerinleim (siehe S. 63), der durch leichtes Erwärmen flüssig wird, anwenden; beim Erkalten wird derselbe starr. Oder aber man fügt zu dem Glycerin noch Gummi arabicum, so dass die am Rande befindliche Schicht allmählich fest wird; die Farrants'sche Mischung, welche aus gleichen Theilen Glycerin, Gummi arabicum und gesättigter Lösung von arseniger Säure besteht, ist ganz empfehlenswerth. Für die meisten Fälle genügt einfach die Mucilago gummi arabici; die Präparate werden in die syrupöse Flüssigkeit eingelegt, die Flüssigkeit trocknet am Rande ein und bewirkt ohne Weiteres eine dauernde Conservirung und Fixirung des Präparats.

In Nelkenöl etc. aufgehellte Präparate werden in Canadabalsam conservirt, wie bereits oben, S. 27, angegeben; hier ist ebenfalls eine weitere Verkittung überflüssig.

V. Beobachtung lebender Gewebe.

Kreislauf. Entzündung.

Die Beobachtung pathologischer Vorgänge am lebenden Gewebe mittelst des Microscops ist beim Menschen nur in höchst beschränkter Weise ausführbar; das von Hüter angegebene Instrument zur Beobachtung des Kreislaufs in der Wangenschleimhaut und ähnlichen Gegenden ergiebt nur sehr mangelhafte Bilder. Auch bei warmblütigen Thieren sind die Schwierigkeiten sehr erheblich; sie sind allerdings überwunden worden, Stricker und Thoma haben rehr complicirte Apparate construirt, welche den Kreislauf, die pathologischen Störungen desselben und die Entzündung bei Säugethieren durch Stunden hindurch zu beobachten gestatten. Es ist hierzu eine regulär eingerichtete künstliche Respiration nothwendig, da die Thiere sonst durch das Curare bald zu Grunde gehen würden; ausserdem muss der hervorgezogene, durchsichtige Theil, der microscopisch beobachtet wird (auch hier am besten das Mesenterium) stets auf der Körpertemperatur des Thieres erhalten werden. Alle diese Bemühungen haben indessen bisher keinen sehr grossen Erfolg aufzuweisen; unsere Kenntnisse sind durch die mühevollen Untersuchungen am Warmblüter nicht sehr wesentlich gefördert worden. Die bisher erkannten, einschlägigen Vorgänge sind zunächst am Kaltblüter (Frosch) und zwar hauptsächlich durch Cohnheim constatirt worden; wegen der grossen Wichtigkeit der betreffenden Beobachtungen sollen die sehr einfachen Methoden, die hierzu nothwendig sind, kurz angegeben werden.

Um den Kreislauf und seine Störungen bei Fröschen zu beobachten, thut man gut, die willkürlichen Bewegungen der Thiere durch Curare zu lähmen. Bringt man ein Körnchen Curare von 0,5—1,0 Mm. Durchmesser unter die Haut eines grossen Frosches, so ist das Thier nach etwa einer halben Stunde bewegungslos, während die vegetativen Functionen weiter vor sich gehen; das geringe Sauerstoffbedürfniss des Frosches kann tagelang durch die Hautathmung allein gedeckt werden. Man kann dann hauptsächlich drei Localitäten zum Studium des Kreislaufes benutzen.

1. Die Schwimmhaut.

Wir haben bei der Schwimmhaut den Vortheil, dass keinerlei Verwundung nothwendig ist, um an ihr die Lebensvorgänge zu beobachten, es genügt, zwei Zehen von einander zu entfernen und zu fixiren. Für viele Beobachtungen ist in Folge dessen dieses Object sehr werthvoll; indessen steht es den andern, gleich zu erwähnenden Objecten an Durchsichtigkeit nach; auch wenn man möglichst pigmentarme Thiere aussucht, stören die Pigmentzellen, ausserdem auch die harten Conturen der mehrfach geschichteten Epithelzellenlagen. Ausserdem kommen eigentliche Entzündungsvorgänge in dem straffen Gewebe nur in sehr geringer Ausdehnung zu Stande; durch die verschiedensten Irritamente erhält man entweder nur Kreislaufstörungen, Gefässdilatation und Contraction oder aber Necrosen; entzündliche Schwellungen bleiben gewöhnlich aus.

2. Zunge.

Die Zunge wird aus der Mundhöhle herausgezogen, über einen Korkring gespannt und mit feinen Insectennadeln oder Igelstacheln auf dem Korkring fixirt; die Nadeln werden dann kurz abgeschnitten. Sie ist dann ohne Weiteres für Untersuchungen mit starken Linsen meist noch zu undurchsichtig; man entfernt daher mittelst einer feinen Scheere ein Stückchen von der nach oben gekehrten, ursprünglich unteren Fläche. Durch Schonung der sichtbaren Gefässe sucht man das Eintreten von Blutung möglichst zu vermeiden; event. wird das Blut durch Kochsalzlösung abgespült. Ist das Beobachtungsfeld rein, so wird das Deckglas aufgelegt, durch Zutröpfeln von Kochsalzlösung jede Eintrocknung verhindert und der übrige Körper des Frosches in feuchtes Fliesspapier eingehüllt. Der Frosch und der die Zunge tragende Korkring liegen auf einer Glasplatte, welche dann direct unter das Microscop geschoben wird. Dann kann die Beobachtung beginnen und event. Stunden, selbst Tage hindurch fortgesetzt werden. Die Spannung der Zunge darf nicht zu stark sein, damit keine Blutstauung resultirt.

Ein so vorbereitetes Object ist auch für starke Linsen vollständig geeignet; die Auswanderung der weissen und rothen Blutkörper ist hier sehr gut zu constatiren, als Entzündungsreiz wirkt die gesetzte Verwundung.

3. Mesenterium.

Man verwende grosse männliche Frösche (kenntlich an den Daumendrüsen), um nicht durch die Eileiter und Ovarien gestört zu werden. Man macht dann in der Axillarlinie einen Hautschnitt durch die untere Hälfte des Rumpfes; die etwa auftretende Blutung hört bald auf, dann wird der Schnitt durch die Musculatur geführt und die Bauchhöhle in der Länge von 10—20 Mm. eröffnet. Man zieht dann mit stumpfer Pincette vorsichtig eine Dünndarmschlinge hervor; dieselbe wird in der für die Zunge beschriebenen Weise über einen Korkring von entsprechender Weite gespannt und auf dem Kork fixirt. Das Mesenterium darf dabei nicht zu stark gespannt werden, sonst kommt Stauung zu Stande; es wird dann mit dem Fragment eines Deckgläschens bedeckt und stellt so ein prachtvolles Object für die Untersuchung mit stärksten Linsen dar. Das Mesenterium wird durch Kochsalzlösung, der Frosch durch feuchte Umhüllung vor dem Vertrocknen geschützt. Der Korkring wird auch hier nicht auf die Glasplatte festgekittet; es ist viel bequemer ihn lose zu lassen. Je vorsichtiger die Präparation ausgeführt, je mehr jede Spannung und sonstige mechanische Beleidigung vermieden worden ist, desto länger dauert es, bis exquisite Entzündungserscheinungen, Randstellung der weissen Blutkörper, Auswanderung etc. zu Stande kommt. Man ist natürlich an der präparirten Zunge wie am Mesenterium in der Lage, jedes beliebige Irritament, Verwundung etc. auf die Substanz wie auf die Gefässe einwirken zu lassen.

Die Lunge und Harnblase des Frosches lässt sich leicht in ähnlicher Weise zur microscopischen Untersuchung vorbereiten.

4. Cornea.

Auch die überlebende Cornea des Frosches giebt ein gutes Object für Beobachtung pathologischer Processe, besonders der Entzündung. Die normale oder in Entzündung versetzte Cornea (z. B. durch Aetzung) wird vorsichtig herausgeschnitten und in dem Tröpfchen humor aqueus, der sich dabei entleert, auf den Objectträger gebracht; event. wird der Rand mehrfach eingeschnitten, damit man die Membran glatt ausbreiten kann. Die Lebenserscheinungen der Zellen, sowohl der Wanderzellen wie der fixen Cornealzellen, lassen sich an der ausgeschnittenen Cornea noch viele Stunden lang beobachten.

VI. Untersuchung von Flüssigkeiten.

Die microscopische Untersuchung von Flüssigkeiten für ärztliche und pathologisch-anatomische Zwecke ist ausserordentlich lohnend; in vielen Fällen giebt ein Blick ins Microscop die sichere Diagnose eines vorher unklaren oder falsch aufgefassten Krankheitszustandes. Sie bietet geringe technische Schwierigkeiten; es handelt sich zunächst nur darum, einen kleinen Tropfen der Flüssigkeit mittelst des Glasstabes auf den Objectträger zu bringen und ihn mit dem Deckglase zu bedecken. Der Tropfen soll nicht so gross sein, dass die Flüssigkeit über den Rand des Deckglases hinüberreicht, auch nicht so hoch, dass das Deckglas frei schwimmt; alles selbstverständliche Dinge.

Unsere Aufgabe geht nun dahin, die in der Flüssigkeit enthaltenen morphotischen Elemente zu untersuchen.

In sehr vielen Fällen sind dieselben schon mit blossem Auge zu constatiren, sei es als diffuse, wolkige Trübung, sei es als gröbere Flocken oder körnige Niederschläge. Man wird natürlich zunächst diese Theile zur microscopischen Untersuchung verwenden, indem man sie mit einem kleinen Löffel oder einer Pincette aufsammelt und bei allmählich gesteigerter Vergrösserung betrachtet. *Das erste ist also stets eine genaue macroscopische Besichtigung der zu untersuchenden Substanz und zwar bei durchfallendem sowohl, wie bei auffallendem Licht*, eine Regel, die, so selbstverständlich sie klingt, doch von dem Anfänger allzu oft ausser Acht gelassen wird.

Sind geformte Elemente in sehr geringer Anzahl enthalten, so untersucht man diejenige Schicht der Flüssigkeit, in der sie noch am reichlichsten zu finden sind, also meist den Bodensatz, da die geformten Elemente in den meisten Fällen specifisch schwerer sind, als die Flüssigkeit; nur die Fette schwimmen auf der Oberfläche. Weniger zu empfehlen ist es, die Flüssigkeit zu filtriren und den Rückstand von dem Filter zu sammeln, la hierbei Verunreinigungen sich nicht sicher vermeiden lassen. In andern ʼällen sind die morphotischen Elemente so reichlich, dass man eine extrem inne Schicht anwenden muss, um zu verhindern, dass sie in mehreren ıgen über einander liegen und sich gegenseitig verdecken. Bei sehr ·ken und breiartigen Flüssigkeiten wird es nothwendig, sie zu verdünnen, die Untersuchung möglich zu machen; wir wenden dazu Serum oder vöhnlich Kochsalzlösung von 0,75 % an.

Lebenseigenschaften der suspendirten Elemente. Amoeboide Bewegungen.

Abgesehen von diesem letzten Falle finden wir also die Elemente in ihrem natürlichen Menstruum und können dann darauf rechnen, sie in möglichst unverändertem Zustande vor Augen zu bekommen, vorausgesetzt dass alle ungünstigen Einwirkungen vermieden werden. Besonders wenn man die Lebenserscheinungen der in dem Fluidum suspendirten Elemente studiren will, muss man verschiedene Vorsichtsmaassregeln beachten.

Da kommt zunächst der Druck des Deckglases in Betracht, welcher nicht nur durch das Gewicht des Glases, sondern noch viel mehr durch die Capillarattraction bei dünner Flüssigkeitsschicht ein sehr hoher werden kann; wenn es erforderlich ist, muss daher das Deckglas gestützt werden, etwa durch untergelegte Glassplitter, Fragmente von Deckgläschen.

Weiterhin muss verhindert werden, dass die Flüssigkeit verdunstet und dadurch in ihrer Concentration sich ändert; dieser Uebelstand tritt am Rande des Präparats sehr schnell ein, langsamer auch in der Mitte desselben, natürlich um so langsamer, je höher die Flüssigkeitsschicht ist und je weiter wir uns von dem Rande entfernen. Man kann die Verdunstung auf ein Minimum reduciren, wenn man über das Präparat eine Art feuchter Kammer deckt; man nimmt einfach ein etwa 2—3 Cmtr. hohes, weites Glasrohr, etwa ein abgesprengtes Stück eines Lampencylinders; dieses wird inwendig mit feuchtem Fliesspapier in dicken Lagen ausgepolstert und über das Präparat gebracht, welches auf einem breiten Objectträger liegt; von oben her wird es durch das Microscoprohr grösstentheils verschlossen.

Besser ist es, die Flüssigkeit im hängenden Tropfen zu untersuchen, indem man Objectträger mit Zellen von etwa 1—2 mm. Tiefe benutzt; die letzteren stellt man sich durch aufgekittete Glasringe oder Glasleisten leicht her, oder bezieht sie als sogenannte hohlgeschliffene Objectträger vom Optiker. Wenn man dann den Rand der Zelle mit Oel bestreicht, das Tröpfchen Flüssigkeit auf die Mitte des Deckglases bringt und zwar auf die untere Fläche desselben, so kann man leicht einen luftdicht abgeschlossenen Raum herstellen, innerhalb dessen eine weitere Verdunstung nicht stattfindet. Dies ist die Art und Weise, wie wir Flüssigkeiten zu untersuchen haben, um event. Bewegungserscheinungen der darin enthaltenen Schizomyceten zu studiren. Lassen wir dann zwei Röhren in die Zelle einmünden, so können wir die Einwirkung von Gasen auf die im hängenden Tröpfchen enthaltenen Elemente microscopisch studiren (Gaskammer).

Die sogen. „amoeboiden“ Protoplasmabewegungen, eventuell auch Theilungsvorgänge etc. der lebendigen Zellen, sind auf diese Weise zu

beobachten; dabei ist natürlich jede Strömung in der Flüssigkeit selbst zu vermeiden, damit nicht etwa durch eine Drehung der Elemente eine Gestaltsveränderung derselben vorgetäuscht werde. Die farblosen Zellen des Blutes und der Lymphe, die Eiter- und Schleimkörperchen, viele der Zellen, die man in Exsudaten antrifft, auch Geschwulstzellen geben Gelegenheit zu diesen höchst interessanten, fesselnden Beobachtungen. Wer an derartige Untersuchungen herangehen will, der muss von vorn herein mit der peinlichsten Sorgfalt verfahren, und muss kritisch, vor Allem aber mit grosser Geduld zu Werke gehen. Die Bewegungen sind fast stets nur sehr langsame, auch bei Anwendung des heizbaren Objecttisches; für den letzteren ist die von Stricker angegebene Construction zu empfehlen.

Die Form der Elemente.

Indessen haben wir es meist mit Elementen zu thun, deren Form vollständig fixirt ist, und haben dann lediglich die Aufgabe, dieselbe genau zu studiren. Dazu ist es naturgemäss erforderlich, dass wir den betr. Körper von allen Seiten zu sehen bekommen; denn es ist ja klar, dass z. B. eine kreisförmige Figur, die wir im Microscop sehen, ebensowohl einer Scheibe, als einer Kugel, einem Cylinder und einem Kegel angehören kann; auch ein Ellipsoid, ein eiförmig oder noch unregelmässiger gestalteter Körper kann unter Umständen im microscopischen Bilde als Kreis erscheinen. Wir helfen uns hier zunächst durch die Micrometerschraube, indem wir die Contur des zu beobachtenden Gegenstandes in verschiedenen Höhen erhalten und uns sein stereoscopisches Bild combiniren; weiterhin aber durch passive Bewegungen, die wir mit ihm vornehmen, indem wir ihn um seine verschiedenen Achsen rollen lassen; am einfachsten durch Erregung eines Flüssigkeitsstroms, etwa durch ein saugendes Fliesspapierstückchen, das an den Rand des Deckglases gelegt wird, oder durch einen mittelst der Nadel auf das Deckglas ausgeübten Druck. Der Anfänger wird dabei manchmal bei diesen Manipulationen den qu. Körper nicht allein drehen und wälzen, sondern ganz aus dem Gesichtsfelde verlieren; bald indessen eignet er sich die nothwendige Zartheit in der Abstufung des Druckes etc. an, und kann dann die Configuration der Elemente nach allen Richtungen scharf beurtheilen und so ihre stereometrische Figur leicht feststellen.

Untersuchung von Gewebssaft etc.

Oft ist es bei Untersuchung von frischen Organen von grossem Werth, die Elemente, Zellen etc. derselben in isolirtem Zustande rasch zu untersuchen; in vielen Fällen gelingt dies nun in höchst einfacher Weise durch Untersuchung des abgestrichenen Gewebssaftes. Man stellt sich zu diesem Zwecke stets zuerst eine frische Schnittfläche her, über die man mit der

Schneide des Scallpells herüberstreicht. Je nach der Festigkeit der Elemente einerseits und des Zusammenhanges derselben, resp. der Kittsubstanz etc. andererseits, gelingt es durch Anwendung eines stärkeren oder gelinderen Druckes, die Elemente der meisten parenchymatösen Organe, oder wenigstens einige derselben, in dieser einfachen, höchst bequemen Weise zu isoliren. Man muss natürlich dabei stets an die engen Grenzen der Methode sich erinnern; dann aber kann man durch dieselbe viel Zeit ersparen, da es in vielen Fällen zur Beantwortung bestimmter Fragen gar nicht nöthig ist, exacte Schnitte des betr. Organs zu untersuchen, wenn nämlich die isolirten Elemente hinreichend charakteristisch sind.

Der abgestrichene Gewebssaft muss in den meisten Fällen verdünnt werden, ehe er zur microscopischen Untersuchung kommt; man benutzt dazu in der Regel Kochsalzlösung.

Bei manchen weichen Geweben gelingt es durch Einstechen einer feinen Glascapillare die Gewebsflüssigkeit mit den darin suspendirten Elementen in die Capillare hineinzusaugen; E. Neumann wendet diese Methode besonders zur Untersuchung des lymphoiden Knochenmarks etc. an. Jedenfalls erhält man auf diese Weise die Elemente in ihrem natürlichen Menstruum.

In sehr einfacher Weise gelingt es, die Elemente weicher Gewebe durch leichtes Zerzupfen mit Nadeln zu isoliren; das Gewebsstück wird in einem Tropfen Kochsalzlösung rasch in kleine Stücke zerrissen. Der Flüssigkeitstropfen wird dabei durch die aus dem Gewebsstück herausgerissenen, isolirten zelligen Elemente etc. erfüllt; man untersucht die frei in der Flüssigkeit schwimmenden Elemente, sowie die Gewebsfragmente selbst, welche wenigsten an ihren Rändern genügend durchsichtig geworden sind. Bei faserigen Geweben, z. B. Muskeln und Nerven, isolirt man durch vorsichtiges Zupfen mit der Nadel die Elemente in ihrer Längsrichtung.

Untersuchung auf Micro-Organismen.

Bei der grossen und stets zunehmenden Wichtigkeit, sowie der Besonderheit des Gegenstandes ist es wohl geboten, die Untersuchung von Flüssigkeiten auf Microorganismen, speciell auf Schizomyceten, gesondert zu besprechen.

Zuvörderst ist es klar, dass hierbei jede Verunreinigung strengstens ausgeschlossen sein muss; schon bei dem Auffangen der Flüssigkeit muss auf absolute Sauberkeit der Gefässe, Canülen etc. geachtet werden. Weiterhin muss die Untersuchung stets in vollkommen frischem Zustande gemacht werden; schon in wenigen Stunden können sich bei geeigneter Temperatur Microorganismen in grosser Zahl entwickeln, da ihre

Keime überall verbreitet sind. Die letzteren finden sich an den Wänden jedes noch so sauberen Gefässes, auf jedem Wischtuch; in geringerer Quantität auch in der atmosphärischen Luft, besonders in bewohnten Räumen (Krankensälen, Laboratorien etc.), es bedarf ganz besonderer Vorsichtsmassregeln, u. A. Erhitzen sämmtlicher Geräthe auf mehr als 100^0 durch längere Zeit, um Flüssigkeiten ohne Beimengung von accidentellen Keimen kleinster Organismen aufzufangen und zu conserviren. Die noch in den letzten Jahren wiederholt auftauchende Annahme einer Generatio aequivoca von Spaltpilzen beruhte jedesmal auf der Vernachlässigung einer der nothwendigen Cautelen.

Wir untersuchen also die Flüssigkeit stets vollkommen frisch; d. h. unmittelbar nach der Entleerung vom Lebenden oder von der Leiche; im letzteren Falle werden wir die Möglichkeit einer postmortalen Entstehung derselben zu berücksichtigen haben. Sehr zu empfehlen ist eine Methode, die durch R. Koch eingeführt worden ist: die Flüssigkeitsprobe wird mittelst eines an einen Glasstab angekitteten Platindrahts entnommen und übertragen, der unmittelbar vorher und nachher durch Glühen sehr leicht und sicher gesäubert werden kann.

Die Untersuchung der Flüssigkeit geschieht zunächst direct, ohne jeden Zusatz; in diesem Falle ist man dann ganz sicher, dass die etwa gefundenen Organismen wirklich der Flüssigkeit selbst angehören. In vielen Fällen erkennt man dann die Organismen an ihren lebhaften Bewegungen. Allerdings ist es nothwendig, in dieser Beziehung recht vorsichtig zu sein, da kleine, in Flüssigkeiten suspendirte Körper fast stets eine tanzende, unter Umständen sehr lebhafte Bewegung zeigen, Brown'sche Molecularbewegung. Von der Energie dieser grösstentheils wohl durch Verdunstungsströme etc. hervorgerufenen Bewegungen macht man sich gewöhnlich nicht die richtige Vorstellung; um eine Anschauung davon zu gewinnen, vertheile man ganz fein pulverisirtes Carmin in einem Wassertropfen und untersuche diesen mit starker Vergrösserung; man wird zu Anfang im höchsten Grade erstaunt sein über die Rapidität und scheinbare Spontaneïtät der passiven Bewegungen der Carminkörner. Ehe man also ein Urtheil über „spontane Bewegungen" von Körnchen etc., die man als Microorganismen anzusprechen geneigt ist, wagt, ist es dringend geboten, sich mit den Brown'schen Molecularbewegungen vollständig vertraut zu machen. Glaubt man es dennoch mit vitalen Bewegungen zu thun zu haben, so muss man dies jedenfalls noch dadurch erhärten, dass man den Nachweis führt, dass die Bewegung aufhört, wenn man Bedingungen einführt, die mit dem Leben der Organismen unvereinbar sind; also z. B. Erwärmung, Behandlung mit starken Säuren und Alkalien. (Vgl. auch S. 74.)

Die meisten der uns interessirenden Microorganismen (es kommen hauptsächlich Schimmelpilze, Hefe- oder Sprosspilze und Spaltpilze oder

Schizomyceten in Betracht) sind gegen diese Reagentien sehr resistent; nur die Spirochäten des Recurrensblutes machen eine Ausnahme, indem sie in allen differenten Reagentien, sogar schon in destillirtem Wasser, sehr rasch zu Grunde gehen. Man kann diese Resistenzfähigkeit der Microben auch zu ihrer Diagnostik verwerthen, da protoplasmatische Körner z. B. in starken Säuren und Alkalien aufgelöst werden, während die Schizomyceten unverändert bleiben. Namentlich wenn die letzteren in grosser Masse zusammenliegen, in sogenannten Colonien, als Zoogloeahaufen, treten sie nach Behandlung mit starker Essigsäure oder Natronlauge oft deutlicher hervor, da die zelligen Elemente und sonstige körnige Massen, welche vorher die Colonien etwa verdeckten, vollständig aufgehellt werden. Auch die Anordnung in Ketten, oder die charakteristische Form der Einzelindividuen, Stäbchen, Ovoid etc. ermöglicht oft die Diagnostik der Microorganismen ohne weitere Schwierigkeiten. Immerhin muss man sich vor Verwechselungen zu hüten suchen; körnige unorganisirte Niederschläge können als Micrococcen, kleinste Crystalle können als Bacillen imponiren; selbst kleinste Fettkörnchen können einem leichtsinnigen Untersucher Gelegenheit zu Irrthümern geben.

Die Koch'sche Methode der Färbung des Trockenpräparats.

In der That ist es unter Umständen durchaus nicht leicht, oft sogar positiv unmöglich, bei einfacher Betrachtung und durch die gewöhnlichen microchemischen Reactionen ein sicheres Urtheil über die Bedeutung kleinster Körnchen zu gewinnen, die in einer Flüssigkeit enthalten sind. Für diese wie überhaupt für alle schwierigen Fälle, sowie überall da, wo es sich um Herstellung von Dauerpräparaten handelt, ist dann die Methode der Trocknung und Färbung anzuwenden, die wesentlich von R. Koch und P. Ehrlich herrührt.

Die Methode geht von folgenden zwei Thatsachen aus:

1) Bei rascher Eintrocknung einer dünnen Flüssigkeitsschicht bleibt die Form der zelligen Elemente und der Schizomyceten der Hauptsache nach unverändert.

2) Die Schizomyceten sind durch eine grosse Verwandtschaft zu den basischen Anilinfarbstoffen ausgezeichnet und lassen sich auf diese Weise von anderweitigen körnigen etc. Gebilden unterscheiden.

Immerhin ist zu beachten, dass nicht die Schizomyceten allein, sondern auch andere Körper, z. B. die Zellkerne und deren Fragmente, gewisse Protaplasmakörner, dieselbe Verwandschaft zu den betreffenden Farbstoffen zeigen, so dass auch bei Anwendung dieser Methode immer noch eine strenge

Kritik in der Verwerthung der Befunde erforderlich ist. Ausserdem ist es wohl denkbar, dass es Schizomycetenformen geben könnte, denen diese Verwandtschaft nicht zukommt; die bisher bekannten Formen zeigen sämmtlich eine sehr intensive Tinctionsfähigkeit; manche Formen indessen, z. B. die Tuberkelbacillen, nur unter ganz bestimmten Modalitäten.

Die Methode wird in der Weise gehandhabt, dass man die Flüssigkeit in allerdünster Schicht auf dem Deckgläschen (resp. Objectträger) ausbreitet, und zwar entweder indem man das Tröpfchen mit der Nadel resp. dem Platindraht in eine feinste Schicht vertheilt, oder indem man ein anderes Deckglas darauf legt und wieder entfernt. Der Anfänger fehlt leicht dadurch, dass er zu dicke Schichten aufträgt; es muss eine so dünne Flüssigkeitschicht sein, wie man sie etwa zur Blutuntersuchung verwendet. Dann wird die Flüssigkeit an der Luft getrocknet und für einige Minuten einer Temperatur von 120^0 ausgesetzt; es genügt auch, das Glas mit dem angetrockneten Fluidum drei Male vorsichtig, etwa in dem Tempo wie man Brod schneidet, durch die Flamme eines Gasbrenners hindurch zu ziehen (Koch); man erlangt bald die nothwendige Uebung, um einerseits genügend zu erwärmen, andererseits nicht zu überhitzen. Die Erhitzung ist besonders für eiweissreiche Flüssigkeiten erforderlich, sie hat hauptsächlich den Zweck, das Eiweiss in eine unlösliche Modification überzuführen; sie darf aber, wenn es sich um Schizomyceten handelt, nicht länger als 5—10 Minuten fortgesetzt werden, da sonst die Färbbarkeit der Schizomyceten Schaden leidet. Ist die Erhitzung geschehen,*) so wird das Präparat gefärbt; man giesst einen Tropfen einer starken Lösung von Gentianaviolett, Methylenblau, Fuchsin, Bismarckbraun, kurz irgend eines der basischen Anilinfarbstoffe darauf, lässt ihn kurze Zeit, eine bis mehrere Minuten lang stehen und spült ihn darauf mit destillirtem Wasser ab; man erkennt dann sofort eine braune, resp. blaue oder rothe Wolke auf dem Glase. Die Untersuchung kann direct vorgenommen werden, indem man das Deckglas, mit der angetrockneten und gefärbten Flüssigkeitsschicht nach unten, mit einem Tropfen destillirten Wassers auf den Objectträger bringt. Das etwa an der oberen Fläche anhaftende Wasser wird mittelst einer Glaspipette durch Saugen oder Blasen leicht entfernt.

Trocknet man dann die untere Fläche des Deckglases nochmals (wiederum am raschesten durch Blasen mit einem Glasrohr), so kann man das Präparat sofort mit einem Tropfen Canadabalsam - Chloroform dauernd conserviren.

---

*) Bei eiweissfreien Flüssigkeiten kann die Erhitzung ganz wegbleiben; stark eiweisshaltige Flüssigkeitsschichten dagegen pflegen, wenn sie nur angetrocknet und dann mit Färbelösungen behandelt werden, leicht anzuquellen und sich theilweise abzulösen; deswegen schickt man bei diesen die Erhitzung, resp. Coagulation der Eiweisskörper voraus.

Ist eine längere Zeit (einige Minuten) zur Färbung wünschenswerth, so kann die Färbung der an das Deckglas angetrockneten Flüssigkeitsschicht im Uhrschälchen vorgenommnn werden; es werden dann meist auch andere körnige Elemente stark gefärbt, nur das Methylenblau hat nach Ehrlich den Vorzug, auch bei stundenlanger Einwirkung nicht zu überfärben.

In einem derartigen Präparat sind nun die zelligen Elemente in ihrer Form meist vollkommen gut erhalten; die bei der Ausbreitung des Fluidums erzeugten Formveränderungen an einzelnen derselben (kometenartige Figuren) sind sehr leicht als solche zu erkennen. Besonders intensiv gefärbt sind die Kerne und ausserdem die Schizomyceten, die auf diese Weise höchst frappant zur Erscheinung gebracht werden.

Neuerdings empfiehlt P. Ehrlich zur Färbung der Schizomyceten in Trockenpräparaten ganz besonders das Methylenblau in mässig concentrirter wässriger Lösung, welches ½ Stunde und länger einwirken soll. Dem Vf. haben die oben erwähnten Farbstoffe, besonders das Gentianaviolett, ungefähr dieselben Resultate gegeben wie das Methylenblau.

Jeder, der diese einfache Methode kennen lernt, muss die Ansicht gewinnen, dass diese die unzweifelhaft beste der bisher bekannten Methoden zum Nachweise von Microorganismen in Flüssigkeiten ist (event. mit der von Gram angegebenen Modification, vgl. S. 49). Bei der Untersuchung der so hergestellten Präparate mit starken Immersionssystemen und offenem Condensor erkennt man sofort die scharf conturirten, intensiv dunkel gefärbten Microorganismen in ihren charakteristischen Formen und Gruppirungen und lernt sehr bald etwaige Verunreinigungen oder Niederschläge als solche zu diagnosticiren und von den Schizomyceten zu unterscheiden. Mit Niederschlägen hat man hauptsächlich bei schleimhaltigen Flüssigkeiten, z. B. Gelenkinhalt, zu kämpfen, da der Schleimstoff mit diesen Farbstoffen ebenfalls eine mässig intensive Färbung annimmt; trotzdem ist auch hier nur wenig Uebung erforderlich, um die unregelmässig gestalteten körnig-fädigen Massen richtig zu deuten. Durch kurze Behandlung der gefärbten Präparate mit einer dünnen Jod-Jodkaliumlösung tritt die Färbung der Schizomyceten gewöhnlich noch intensiver zu Tage; event. kann man auch nachher durch Alcoholbehandlung die Kerne entfärben und eine isolirte Färbung der Schizomyceten herstellen (Gram).

Schlieslich ist noch zu bemerken, dass die Tuberkelbacillen bei Anwendung dieser Methode niemals gefärbt werden; sie unterscheiden sich hierdurch von allen andern bekannten Formen der Schizomyceten. Baumgarten hat sogar den Vorschlag gemacht, die negative Eigenschaft derselben, die Nichtfärbbarkeit zu ihrer raschen Diagnosticirung in den Sputis zu benutzen.

Ganz ebenso wie Flüssigkeiten, kann man auch den Gewebssaft im gefärbten Trockenpräparat auf Schizomyceten untersuchen. Indem man

mit dem (vorher geglühten) Platindraht über eine frische, saubere Schnittfläche eines Organs herüberstreicht, gewinnt man meist eine genügende Menge von Fluidum, welche dann mit dem Draht direct auf das Deckgläschen aufgestrichen wird. Zur bequemsten und raschesten Demonstration z. B. der Pneumoniemicrococcen ist dieses Verfahren sehr empfehlenswerth.

Wer selbstständige Untersuchungen ausführen will, der wird sich natürlich nicht mit der einfachen Demonstration der Microorganismen begnügen, sondern kommt in die Nothwendigkeit, ihre Eigenschaften näher zu studiren. Zu diesem Zwecke ist die Deckglas-Trocken-Methode wiederum sehr bequem; man kann sehr leicht von einer Flüssigkeit, von einem Organquerschnitt 50 und mehr Trockenpräparate herstellen und beliebig lange ungefärbt in einem kleinen Schächtelchen conserviren. Auf diese Weise gewinnt man eine grosse Zahl annähernd identischer Deckglaspräparate, die man gelegentlich nach irgend welchen Richtungen hin mit chemischen Reagentien etc. und verschiedenen Färbungen zu studiren in der Lage ist.

Dass nicht sämmtliche Schizomyceten auf alle basischen Anilinfarbstoffe gleichartig reagiren, ist von vorn herein klar; am grössten sind die Verschiedenheiten, so weit bisher bekannt bei den kapseltragenden Micrococcen der Pneumonie. Indessen ist anzunehmen, dass bei fortgesetzten Untersuchungen auch andere Schizomyceten bestimmte, specifische Reactionen nach dieser Richtung hin erkennen lassen werden.

1. Blut.

Die Untersuchung des Blutes ist nach den angeführten Principien leicht zu machen; ein Tröpfchen Blut, sei es aus einer grösseren Blutentleerung, sei es aus einem Nadelstich, wird sauber aufgefangen und eingedeckt; man muss dringend beachten, dass die Schicht nur extrem dünn sein darf, so dass immer nur eine Schicht rother Blutkörperchen vorliegt. Bei dem Auffangen des Tröpfchens aus der Stichwunde muss die Haut vorher sorgfältig gesäubert und getrocknet, die anzuwendende Nadel unmittelbar vorher geglüht werden; trotzdem muss man darauf gefasst sein, einige Verunreinigungen, wenn auch nur Hornplatten etc., vorzufinden. Man thut am besten, den ersten hervorquellenden Tropfen sauber abzuwischen, einen neuen Tropfen heraustreten zu lassen und von diesem eine kleine Partie auf dem darübergehaltenen Deckgläschen aufzufangen; das Deckgläschen wird dann mit dem daranhängenden Tröpfchen, das höchstens die Grösse eines kleinen Stecknadelkopfes haben darf, leise auf das Objectglas gelegt, so dass das Blut zwischen beiden Gläsern in dünnster Schicht vertheilt wird. Ist die Schicht dünn genug ausgebreitet, so erkennt man

sofort zwischen den scheibenförmigen rothen Blutkörperchen das helle, durchsichtige Plasma und die im normalen Blut bekanntlich sehr spärlichen weissen Blutzellen.

Ausserdem finden sich schon in der Norm im Blute verschieden reichliche kleine Körnchen, unregelmässig gestaltet, die als Elementarkörnchen oder Zerfallskörper bezeichnet werden; über ihre Bedeutung wird noch gestritten. Wahrscheinlich verbergen sich unter ihnen Elemente von ganz verschiedenem Werthe; die neuerdings von Bizzozero beschriebenen „Blutplättchen", welche nach diesem Autor in einer nahen Beziehung zur Blutgerinnung stehen, sind bisher ebenfalls als indifferente Zerfallskörper angesehen worden. Hayem bezeichnet sie als Hämatoblasten, also Elemente, aus denen rothe Blutkörperchen entstehen sollen; höchst wahrscheinlich mit Unrecht. Die Menge und Grösse dieser kleinen Körper wechselt ungemein; eine etwaige pathologische Bedeutung derselben ist noch nicht sicher bekannt. Von Lostorfer und Stricker wurden sie einmal für charakteristische Elemente des Blutes bei Syphilis angesehen und „Syphiliskörperchen" benannt; wenn diese Ansicht richtig wäre, so wäre allerdings jeder Mensch syphilitisch.

Was die Einwirkung der gewöhnlichen Reagentien betrifft, so ist es bekannt, dass destillirtes Wasser, ebenso wie Säuren und Alkalien, die rothen Blutkörper aufquellen und erblassen macht; das Hämoglobin wird schnell ausgezogen, so dass die rothen Blutkörper fast vollständig verschwinden. Um sie in ihrer natürlichen Form möglichst zu erhalten, muss man Salzlösungen von bestimmter Concentration, sogen. indifferente Zusatzflüssigkeiten, verwenden, z. B. Chlornatriumlösung von 0,75—1,0 % etc.; concentrirtere Salzlösungen erhalten die Blutkörperchen ebenfalls, aber mit wesentlicher Alteration ihrer Form und Grösse, sie machen die Blutkörper schrumpfen.

Für pathologische Blutuntersuchungen ist es jedenfalls gerathen, das Blut unverdünnt, direct zu betrachten. Die gewöhnlichsten Veränderungen des Blutes sind folgende.

a. Verminderung der Zahl der rothen Blutkörperchen bei Anämie.

Bei einiger Uebung gelingt es leicht, höhere Grade dieser Veränderung direct ohne weitere Apparate zu constatiren, indem man ein Präparat des pathologischen Blutes mit einem auf dieselbe Weise angefertigten Präparat von normalem Blute vergleicht. Kommt es auf genaue Bestimmungen an, so benutzt man einen Blutkörperchen-Zählapparat; der empfehlenswertheste dürfte der von Thoma*) construirte Apparat sein, der von dem Optiker

*) Lyon und Thoma, über die Methode der Blutkörperzählung. Virch. Arch. Bd. 84. S. 131.

Zeiss in Jena angefertigt wird. Die genaue Anleitung zum Gebrauch dieses Apparats findet sich in dem citirten Aufsatz. Während in der Norm die Zahl der rothen Blutkörperchen gegen fünf Millionen im Cub.-Mm. beträgt, kann sie in schweren Fällen von Anämie bis auf 500,000, ja bis auf 143,000 im Cub.-Mm. sinken (Quincke); es ist klar, dass so hohe Grade schon ohne besondere Zählungen deutlich erkannt werden können.

b. Veränderung der Grösse und Gestalt der rothen Blutkörper, Poikilocythose. Kernhaltige rothe Blutkörper.

In der Norm haben die rothen Blutkörperchen bekanntlich alle dieselbe charakteristische Scheibenform mit den Eindrücken von beiden Seiten her; die Mitte ist dünner und demnach auch weniger stark gefärbt als der Rand; auch die Grösse der normalen rothen Blutkörperchen schwankt in relativ engen Grenzen, wie man sich leicht überzeugen kann. Bei den meisten Fällen von Anämie, besonders aber regelmässig bei der sogen. essentiellen, perniciösen Anämie finden sich neben normalen Blutkörpern reichliche unregelmässig gestaltete, meist kleinere hämoglobinhaltige Körper, sogenannte Microcythen, zuweilen auch solche, die die normalen rothen Blutkörper an Grösse überragen (Megaloblasten, Ehrlich). Auch kernhaltige Blutkörper sind, wenn auch selten, bei der directen Untersuchung des anämischen Blutes gefunden worden; Ehrlich hat durch Untersuchung von gefärbten Trockenpräparaten des Blutes (deren Herstellung nach der S. 79 angeführten Methode geschieht, nur dass die Erhitzung längere Zeit hindurch stattfindet) gefunden, dass auf diese Weise die kernhaltigen Blutkörperchen bei allen schweren Anämien, mögen sie traumatisch oder essentiell sein, nachgewiesen werden können. Als differenzielles Moment constatirte er dabei, dass bei traumatischer, secundärer Anämie kernhaltige Blutkörper von der Grösse normaler rother Blutkörper gefunden werden, Normoblasten, während für die essentielle Anämie die grossen Formen, Megaloblasten charakteristisch sind.

Ueber die Microcythen und Poikilocythen ist noch zu bemerken, dass sie höchst wahrscheinlich ein Zerfallsproduct resp. eine Degenerationsform der normalen rothen Blutkörper darstellen; untersucht man das Blut einer Leiche, etwa 24 Stunden post mortem, so findet man auch in normalem Blut reichliche analoge Formen; unter Umständen soll man sie sogar unter seinen Augen in dem Blutpräparat entstehen sehen (Vulpian). Jedenfalls soll, wenn auf diese Dinge vigilirt wird, das Blut in möglichst wenig verändertem Zustande zur Untersuchung kommen. Gewisse Formen der Microcythen sind jedenfalls als Kunstproducte zu betrachten.

c. Vermehrung der Zahl der weissen Blutkörper. Leukocythose und Leukämie. Verschiedene Protoplasmakörnung.

Bei vielen Erkrankungen, besonders auch bei fieberhaften Zuständen sind die weissen Blutkörperchen absolut und relativ zu der Zahl der rothen vermehrt. (Leukocythose, Virchow.)

In der Norm ist das Verhältniss der weissen zu den rothen Blutkörperchen 1 : 300 oder noch geringer; bei der directen Untersuchung des Blutes, das am besten auch hier ohne jeden Zusatz untersucht wird, lernt man leicht die relative Zunahme der weissen Blutkörperchen annähernd sicher abschätzen. Bei der Leukocythose, die wieder rückgängig werden kann, kommt eine Vermehrung der weissen Blutkörper bis auf 1:50 und darüber vor; bei der Leukämie, die in der Regel eine dauernde, nothwendig zum Tode führende Erkrankung darstellt, steigt das Verhältniss in den schwersten Fällen so weit, dass die weissen Blutkörper an Zahl die rothen übertreffen. Dabei ist dann auch die absolute Zahl der rothen Blutkörper sehr erheblich vermindert; für exacte Feststellung dieser Verhältnisse ist der Zählapparat erforderlich.

Von besonderem Interesse sind die Verhältnisse der Protoplasmakörnung in den weissen Blutkörperchen, die in der letzten Zeit durch P. Ehrlich*) studirt worden sind. Ehrlich bereitet sich Trockenpräparate des Blutes in dünnster Schicht und erhitzt dieselben längere Zeit auf etwa 120°. Wenn er nun dann auf diese Präparate verschiedene Farbstofflösungen einwirken lässt, so gelingt es ihm, constante Differenzen in der Färbung der Protoplasmakörner innerhalb der Leukocythen zu erhalten, die von hoher physiologischer, sowie auch von diagnostischer Bedeutung sind. E. unterscheidet auf diese Weise fünf verschiedene Arten von Körnung, Alpha- bis Epsilon-Körner; die α-Körner, auch eosinophile Körner genannt, charakterisiren sich durch eine intensive Tinctionsfähigkeit mit sauren Farbstoffen, z, B. mit Eosin. Diese „eosinophilen" Körner sind nur in sehr wenigen normalen weissen Blutkörperchen des Menschen vorhanden und es gelingt, an dem reichlichen Vorhandensein der eosinophilen Zellen eine beginnende Leukämie von einer gewöhnlichen Leukocythose zu unterscheiden. Die Darstellung der eosinophilen Zellen ist nach Ehrlich sehr einfach; ein getrocknetes und erhitztes Blutpräparat wird mit einem Tropfen einer Glycerin-Eosinlösung in kurzer Zeit gefärbt und mit Wasser abgespült; event. wiederum getrocknet und mit Canadabalsam

---

*) Die auf Färbungsmethoden und die Resultate derselben bezüglichen Angaben Ehrlich's sind in mehreren Dissertationen seiner Schüler, sowie in einer Anzahl kleiner Notizen an verschiedenen Orten zerstreut; eine höchst unzweckmässige Art der Publication.

eingeschlossen; ist eine Vermehrung der eosinophilen Zellen vorhanden, so fallen sie sofort als rothgefärbte Körper ins Auge.

d. Anderweitige im Blute vorkommende zellige Elemente. Würmer und Schizomyceten im Blut.

Bei Ileotyphus sind grössere Zellen im Blute gefunden worden, die mehrere rothe Blutkörperchen in ihrem Innern enthalten (Eichhorst); höchst wahrscheinlich stammen dieselben aus der Milz, da wir bei den Autopsien in dem typhösen Milztumor ganz ähnliche Gebilde regelmässig in Menge antreffen. Auch platte, mit reichlichen Fetttropfen versehene Zellen sind bei acuten Infectionskrankheiten, besonders bei Recurrens, öfters im Blute gefunden worden; sie werden als Gefässendothelien angesehen.

Zellen, die mit schwarzen Pigmentkörnern und -Schollen versehen sind, sowie freie Pigmentmassen finden sich im Blute bei schwerer Malariainfection: Melanämie.

Geschwulstelemente, welche in Fällen von bösartiger metastasirender Tumorbildung im Blute circuliren, wird man bei Untersuchung von Capillarblut, wie man es durch einen Nadelstich, oder einen Schröpfkopf erhält, wohl kaum zu erwarten haben; gewöhnlich sind dieselben nur dann charakteristisch, wenn sie erhebliche Dimensionen haben, und können dann die engen Capillaren nicht passiren.

Von thierischen Parasiten kommen Filaria sanguinis und Distoma hämatobium im Blute des Menschen vor, beide nur in tropischen (oder subtropischen) Gegenden.

Schizomyceten im Blute des lebenden Menschen*) sind bis jetzt nur in zwei Krankheiten regelmässig gefunden worden, der Bacillus anthracis (Davaine) bei Milzbrand und die Spirochäta Obermeyeri bei Febris recurrens. Man untersucht das Blut direct ohne jeden Zusatz in sehr dünner Schicht, oder man macht Trockenpräparate, die man in der oben beschriebenen Weise erhitzt und mit Gentianaviolett oder Methylenblau etc. färbt. Die Milzbrandbacillen sind schlanke Stäbchen, unbeweglich, gegen die meisten Reagentien resistent; die Recurrensspirillen dagegen sehr lebhaft beweglich und durch die meisten Zusatzflüssigkeiten, schon durch destillirtes Wasser leicht zerstörbar. Das Vorkommen der Spirillen ist bekanntlich auf die fieberhafte Periode der Krankheit beschränkt; nur ganz selten finden sie sich noch kurze Zeit nach dem Fieberabfall. Dagegen fehlen sie in der Fieberzeit niemals, sind demnach als ein sicheres diagnostisches Kriterium für diese Krankheit zu betrachten. Allerdings sind sie manchmal, selbst bei nicht ganz

*) Tuberkelbacillen sind bis jetzt nur im Leichenblut bei allgemeiner Miliartuberculose durch Weichselbaum gefunden worden.

leichten Fällen, nur in geringer Anzahl vorhanden und können bei flüchtiger Untersuchung wohl auch übersehen werden. Für solche Fälle ist es anzurathen, wenn es diagnostisch wichtig erscheint, einige Gramm Blut durch einen Schröpfkopf zu entnehmen und coaguliren zu lassen. Die Spirillen pflegen sich dann allmählich an den Randtheilen der Gerinnsel zu sammeln, oft in grossen Gruppen, zu 20 und darüber, selbst in Knäuel geballt oder in Form eines Rattenkönigs mit einander verbunden. Da sie ihre lebhaften, flimmernden Bewegungen stundenlang, ja Tage lang ausserhalb des Organismus bei Zimmertemperatur bewahren*), so erregen sie, in Gruppen zusammengelagert, heftige Flüssigkeitsströmungen, so dass man oft schon bei schwacher Vergrösserung auf sie aufmerksam gemacht wird. Zu ihrer genaueren Untersuchung ist dann eine Vergrösserung von 300—400 erforderlich. An Trockenpräparaten kann man die Spirillen sehr leicht mit den verschiedenen basischen Anilinfarben (Gentianaviolett etc.) tingiren. Die Entwickelungsgeschichte der Spirillen ist noch unbekannt; ob die angeblich beweglichen kleinen Körperchen und Doppelkörnchen, die man im Recurrensblut ebenso wie im Blute bei andern Infectionskrankheiten, zuweilen selbst im normalen Blut gesehen und als „Micrococcen" oder Sporen angesprochen hat, wirklich als solche betrachtet werden dürfen, ist noch zweifelhaft.

Jedenfalls sind die Angaben über das Vorkommen von Microorganismen im normalen Blut durchaus nicht vertrauenswürdig; auch die meisten Mittheilungen über sogen. Micrococcen, Monaden, sowie von Stäbchen im Blute bei verschiedenen Infectionskrankheiten: Diphtheritis, Hospitalbrand, Erysipel etc., sowie bei Intermittens sind nicht hinlänglich verbürgt. Selbst bei Pyämie und bei Endocarditis ulcerosa lässt die Untersuchung des Blutes beim Lebenden gewöhnlich keine Organismen nachweisen, während in denselben post mortem die Capillaren an vielen Stellen mit Micrococcen vollgestopft gefunden werden. Es wäre nicht undenkbar, dass in solchen Fällen die Organismen schubweise in das Blut gelangen, vielleicht immer nur in geringer Menge, und dann sehr bald in den Capillaren hängen bleiben, wo sie sich unter Umständen rapide vermehren können. Es ist noch zu bemerken, dass Microorganismen (obwohl oft genug in Eiterkörperchen etc.) bis jetzt noch niemals im Innern der weissen Blutkörperchen des Menschen mit Sicherheit gefunden worden sind, während die letzteren doch sonstige feinkörnige Massen mit Begierde in sich aufzunehmen pflegen.

Voraussichtlich bringt die Zukunft weitere Entdeckungen nach dieser Richtung; es ist leicht möglich, dass in dem, was wir bis jetzt als Zerfallskörperchen promiscue zu bezeichnen genöthigt sind, zuweilen wichtige Gebilde versteckt liegen, die wir später einmal zu differenziren lernen.

*) Neuerdings wird sogar die Beobachtung mitgetheilt, dass sie sich ausserhalb des Organismus vermehren. (Albrecht.)

e. Untersuchung von Blutflecken. Hämincrystalle. Hämatoidin.

Auf Holz, Leinwand, Metallinstrumenten etc. eingetrocknetes Blut wird häufig der Gegenstand gerichtsärztlicher Untersuchung.

Es gelingt sehr oft durch Aufweichen in geeigneten Flüssigkeiten — besonders Kochsalzlösung von 0,8 % und Kalilauge 33 % —, Blutkörper aus solchen Blutflecken zu isoliren, oft ist sogar ihre Form und Grösse noch einigermaassen gut erhalten.

Da nun bekanntlich das Blut des Menschen und der Säugethiere durch kreisrunde Form der rothen Blutkörperchen charakterisirt ist, während die übrigen Wirbelthiere ovale Blutkörper haben, so kann man noch am eingetrockneten Blut gewöhnlich mit voller Sicherheit entscheiden, ob es von einem Säugethiere (einschliesslich des Menschen) oder etwa einem Vogel etc. herrührt. Weiter geht aber unsere Kunst nicht; es ist nicht möglich, die Blutkörperchen mit Sicherheit als menschliche zu diagnosticiren. Die meisten Säugethiere haben allerdings etwas kleinere Blutkörperchen als der Mensch; Schaf und Ziegenblutkörperchen sind im Mittel nur wenig über halb so gross wie menschliche, andere Thiere, z. B. der Hund, nähern sich dagegen in dieser Beziehung sehr an den Menschen. Jedenfalls thut man gut, bei der Beurtheilung von Blutflecken nicht weiter zu gehen, als gegebenen Falls zu erklären, dass es sich um Säugethierblut handelt; die Grössenverhältnisse sind bei der Verschiedenheit des Eintrocknungsmodus und bei der Verschiedenheit des Anquellens in der benutzten Zusatzflüssigkeit je nach dem Alter des Flecks etc., nicht absolut sicher zu verwerthen.

Ausserdem erhält man von trockenen Blutflecken die sogen. Teichmann'schen Hämincrystalle; dieselben bestehen aus salzsaurem Hämatin und werden folgendermaassen hergestellt: Zu einer kleinen Partie des eingetrockneten Blutes, z. B. zu einem damit imprägnirten Faden, werden auf dem Objectträger einige Tropfen Eisessig zugesetzt, ausserdem ein Körnchen Kochsalz; der Objectträger wird dann allmählich erwärmt, bis Blasenbildung beginnt. Dann sieht man um den Faden herum bei microscopischer Betrachtung eine grosse Zahl von rhombischen dunkelbraunen Crystallen auftreten, die in Wasser vollständig unlöslich und exquisit doppeltbrechend sind. Diese Probe ergiebt noch bei ganz alten Blutflecken positive Resultate; es ist selbstverständlich, dass dieselbe bei jeder Blutsorte anwendbar ist. Oft ist es nothwendig, den zweifelhaften Fleck zuerst mit Wasser auszuziehen und mit dem eingedampften Extract weiter zu manipuliren.

Von diesen künstlich hergestellten unterscheiden sich die Hämatoidincrystalle, welche ebenfalls in rhombischer Form in älteren Blutextravasaten, in den gelben Körpern der Ovarien etc., theils frei, theils im

Innern von Zellen eingeschlossen gefunden werden. Sie sind von lebhaft rubinrother oder orangerother Färbung und enthalten kein Eisen; sie lösen sich in Chloroform und haben die grösste Achnlichkeit mit dem Bilirubin, von vielen Seiten werden sie sogar als identisch mit Bilirubin angesehen.

Die Hämoglobincrystalle kommen, so viel bis jetzt bekannt, beim Menschen in natürlichem Zustande nicht vor (während sie u. A. beim Meerschweinchen im Uterus post partum in Masse gefunden werden); man kann sie auf verschiedene Weise darstellen, z. B. durch Einwirkung von concentrirter Pyrogallussäurelösung auf Blut, das vorher mit destillirtem Wasser verdünnt worden ist.

2. Sputa.

Die microscopische Untersuchung der Sputa ist von sehr hoher diagnostischer Bedeutung und wird deshalb ausserordentlich häufig vorgenommen. Die Technik dieser Untersuchung ist sehr einfach; zunächst wird macroscopisch festgestellt, was für Substanzen in dem Sputum unterschieden werden können, das ja stets ein Gemenge aus mehrerlei Stoffen darstellt, die auch von verschiedenen Orten herstammen. Besonders hat man dabei auf undurchsichtige, weisse oder grauweisse Pfröpfe zu achten, die am besten hervortreten, wenn das Sputum in dünner Schicht auf einen schwarz angestrichenen Porcellanteller ausgegossen wird, gerade in diesen Pfröpfchen findet man meist die elastischen Fasern, auf die man fahndet; sie sind dann als abgelöste Stückchen einer Cavernenwand aufzufassen. Auch die von Leyden sogenannten Asthmacrystalle finden sich gewöhnlich im Innern von etwa hirsekorngrossen grünlichweissen Pfröpfchen, die schon mit blossem Auge in der sonst hellen Substanz des Sputum's zu unterscheiden sind. Ebenso wenn man Grund hat, auf Echinococcen oder sonstige seltenere Beimengungen zu vigiliren, kurz, in jedem Falle muss eine genaue macroscopische Untersuchung vorangehen; eine Vernachlässigung dieser Vorschrift führt oft genug Misserfolge und negative Resultate nach sich. Von allen diesen verschiedenen; oft schichtenweise über einander sich lagernden Partien werden dann microscopische Präparate gemacht, indem man ein Stück der schleimigen Substanz mit Nadel und Spatel auf den Objectträger bringt und mit dem Deckglase bedeckt. Nur selten wird eine Zusatzflüssigkeit zur Verdünnung nothwendig werden, man benutzt Kochsalzlösung oder destillirtes Wasser. Die microscopische Untersuchung geschieht nun so, dass man mit schwacher, etwa 50—80 maliger Vergrösserung beginnt und erst nachdem man das ganze Präparat bei dieser Vergrösserung kennen gelernt hat, zu der stärkeren Linse übergeht. Die elastischen Fasern sind gewöhnlich schon bei schwacher Vergrösserung

einigermaassen kenntlich, entweder direct oder durch die etwas dunklere, krümlige Substanz, in die sie eingebettet sind; da die schwache Vergrösserung ein entsprechend grösseres Gesichtsfeld darbietet, so hat man viel mehr Chancen, sie mit schwacher, als mit starker Vergrösserung zu finden. Dazu kommt, dass die schwache Vergrösserung in Bezug auf kleine Differenzen des Focalabstandes nicht so empfindlich ist, in Folge dessen also die Untersuchung mehrerer über einander liegender Schichten des Präparats zu gleicher Zeit gestattet.

Die mit der schwachen Vergrösserung als different aufgefassten Partien des Präparats werden dann mit der starken Linse näher analysirt; erst dann wird die microscopische Diagnose gestellt.

a. Mundflüssigkeiten.

Bei der Untersuchung der Sputa wird man fast stets auf Verunreinigungen der verschiedensten Art stossen. Niemals wird man erwarten dürfen, den Inhalt des Bronchialbaumes rein vor sich zu halten; mindestens sind stets die Secrete des Mundes, der Speicheldrüsen und des Rachens mit beigemengt. Man muss demnach diese genau kennen lernen.

In den Mundflüssigkeiten finden sich normaler Weise stets reichliche Epithelien der Mund- und Rachenschleimhaut, meist in mehr oder minder vorgeschrittener Verhornung; diese grossen unregelmässig gestalteten Platten, die mit Säuren oder Alkalien zu kugeligen Blasen aufquellen, lernt man sehr bald kennen, meist sind sie mit reichlichen Schizomyceten besetzt. Bei catarrhalischen Zuständen der Mund- und Rachenschleimhaut kommen auch lebende Epithelien in der Mundflüssigkeit vor welche buckelförmige Fortsätze treiben und schwache amöboide Bewegungen machen.

Oft werden auch bei Mundcatarrh die oberen Schichten der Epithelzellen in continuo abgestossen, besonders reichlich finden sich im Zungenbelag bei solchen Individuen die besenartigen Spitzen der Papillae filiformes, die aus derb verhornten, fest aneinander haftenden Epithelzellen bestehen.

Ausserdem finden wir reichliche Rundzellen, Schleim- oder Speichelkörperchen, welche aus den Schleim- oder Speicheldrüsen und zwar besonders aus der Submaxillaris und Sublingualis, zum kleineren Theil wohl auch aus den tieferen Schichten des geschichteten Plattenepithels herstammen. Ursprünglich sind es kleine amöboide Zellen, analog den Lymphkörperchen etc., sie verändern sich aber unter dem Einfluss des dünnen Parotisspeichels derart, dass sie kugelförmig anquellen und eine Grenzmembran im Gegensatz zu dem hellen Inhalt hervortreten lassen; der letztere beherbergt einen oder zwei rundliche Kerne, ausserdem eine grosse Zahl feiner Körnchen, die stets in lebhafter tanzender Bewegung

begriffen sind: Molecularbewegung in den Speichelkörperchen. Diese Körnchen sind nicht etwa, wie man vermuthet hat, parasitäre Organismen, wenigstens färben sie sich in basischen Anilinfarbstoffen niemals; ob die so lebhafte Bewegung derselben ein vitales Phänomen darstellt, etwa analog den Protoplasmaströmungen in Pflanzenzellen, ist nicht ausgemacht.

Ausserdem aber tummeln sich frei in den Mundflüssigkeiten reichliche Microorganismen der verschiedensten Art, steife, lange Lepthothrixfäden von verschiedener Breite, kugelige Coccen verschiedener Grösse, oft in Ketten oder in compacten Haufen angeordnet, nicht selten auch Bacillen und sehr elegante Formen von Spirochäten, die in ihrer Gestalt und schlängelnden Bewegung den Spirillen des Recurrensblutes sehr ähnlich sind, nur gewöhnlich erheblich grössere Dimensionen als jene erreichen. Je geringere Sorgfalt ein Individuum auf die Säuberung seiner Mundhöhle verwendet, in desto reicheren Massen pflegen sich die Microorganismen anzusiedeln; indessen fehlen sie selbst bei der grössten Reinlichkeit niemals vollständig, die in der Einathmungsluft stets enthaltenen Keime der Schizomyceten finden in den Flüssigkeiten der Mundhöhle stets den günstigsten Nährboden. Eine Species derselben wurde als Ursache der Zahncaries angesehen, indessen wahrscheinlich mit Unrecht (W. Miller). Bei Uebertragung auf Thiere finden sich eine ganze Anzahl von pathogenen Spaltpilzen in der normalen menschlichen Mundflüssigkeit.

Sprosspilze sind in den Mundflüssigkeiten nur zuweilen in grösserer Quantität vorhanden, dagegen finden wir eine Species von Fadenpilzen, den Soorpilz: Oidium albicans, sehr häufig darin; bekanntlich am häufigsten bei Kindern, die mit Milch genährt werden, und bei Erwachsenen, deren Ernährung sehr stark herabgesetzt ist, z. B. bei Phthisikern etc. Es sind verzweigte, gegliederte Fäden mit ovalen Sporen, die zwischen den Epithelzellen der obersten Schichten und auf der Oberfläche selbst ein mehr oder minder dichtes Mycelium bilden.

Ausser diesen Elementen kommen in der Mundflüssigkeit oft allerhand Speisereste vegetabilischer Art vor; selbst viele Stunden lang nach der Mahlzeit behalten viele Personen in ihrer Mundhöhle, besonders zwischen den Zähnen oder in cariösen Höhlen derselben, microscopische Proben des Genossenen, die bei der Untersuchung des Auswurfs den Anfänger oft genug in Erstaunen und in Verlegenheit setzen.

Auch der schleimig-flüssige Inhalt der Nasenhöhle, dem oft Blut beigemischt ist, kann als Verunreinigung in dem Auswurf gefunden werden, weiterhin der Inhalt von Abscessen die sich in die Mund- und Rachenhöhle hinein öffnen (Zahn- und Kieferabscesse, tonsillare und retropharyngerale Abscesse). Besonders zu bemerken sind in dieser Richtung die kleinen, bis über Erbsengrösse erreichenden Concremente, die sich oft in den Buchten der Tonsillen durch Kalkincrustation des retinirten Secretes

bilden und gelegentlich, etwa bei einem Hustenstoss, entfernt werden. Der Patient, oft auch der Arzt, wird durch einen derartigen vermeintlichen Lungenstein sehr beunruhigt; bei der microscopischen Untersuchung stellt man sehr leicht die richtige Diagnose. Durch Zusatz von verdünnter Salzsäure wird der Kalk gelöst, es restiren dann die grossen verhornten Epithelzellen, die zuweilen in Form von concentrischen Kugeln angeordnet sind; ausserdem massenhafte Microorganismen.

b. Producte der Schleimhaut des Respirationsapparats.

Erst nachdem man sich mit allen diesen, accidentell im Auswurf vorkommenden Elementen genau bekannt gemacht hat, kann man mit Vortheil an die microscopische Untersuchung desselben herangehen. Der Hauptbestandtheil des Auswurfs ist ein Absonderungsproduct der entzündeten Respirationsschleimhaut, eine schleimige Flüssigkeit mit mehr oder minder reichlichen darin befindlichen Rundzellen. Das Secret der Schleimhaut des Rachens und des oberen Theils des Kehlkopfes, soweit derselbe geschichtetes Plattenepithel trägt, ist ausserdem stets sehr reich an desquamirten Epithelzellen; dagegen findet in dem übrigen Respirationstractus, in dem unteren Theil des Kehlkopfes, Trachea und Bronchien, also überall da, wo die Schleimhaut mit hohem cylindrischen Flimmerepithel besetzt ist, eine Epitheldesquamation nur in seltenen Fällen statt. Es ist eine Rarität, bei Untersuchung der Sputa auf Flimmerzellen oder Reste derselben zu stossen.

Der glasig-durchsichtige Antheil der Sputa ist sehr arm an geformten Elementen; je reicher die letzteren, desto trüber, undurchsichtiger wird das Sputum; der maximale Reichthum an Rundzellen findet sich in dem eitrigen Sputum, hier sind auch gewöhnlich schon reichliche feine Fettkörnchen in dem Protoplasma der Rundzellen, welche ihrerseits die Undurchsichtigkeit vermehren und den gelblichen Farbenton bedingen. Die Rundzellen sind in den meisten Fällen bereits abgestorben, starr, bestehen aus dunkelkörnigem Protoplasma und einem oder mehreren Kernen; eine besondere Wandschicht ist gewöhnlich nicht vorhanden, meist ist ihr Rand feinhöckerig, wie ausgefressen. Die Protoplasmakörnung ist meist so intensiv, dass der Kern resp. die Kerne verdeckt werden; durch Essigsäure treten diese dann deutlicher hervor, indem die Protoplasmakörner grösstentheils verschwinden.

Die meisten der *Rundzellen*, die wir im Sputum finden, sind etwa *von der Grösse der weissen Blutkörperchen* oder wenig darüber. In der That darf man wohl annehmen, dass wenigstens ein grosser Theil von ihnen direct als emigrirte weisse Blutkörper aufzufassen sind, ein anderer Theil derselben mag aus den Schleimdrüsen oder aus dem entzündeten Gewebe der Schleimhaut herstammen. Auss findet

man nicht selten auch grössere epithelähnliche Rundzellen im Sputum, charakterisirt durch eine scharfe, ungefähr kreisförmige Contur und durch einen bläschenförmigen Kern; d. h. der Kern (seltener auch die zwei Kerne) wird durch eine dunkle, scharf gezogene Linie begrenzt, sein Inneres ist hell und enthält einen oder mehre Kernkörperchen. Macht man Tinctionen (am besten am erhitzten Trockenprärarat mit basischen Anilinfarbstoffen) so färben sich die Kerne dieser epithelähnlichen Zellen nicht so intensiv und gleichmässig dunkel, wie die der gewöhnlichen, kleinen Rundzellen, sondern lassen ebenfalls den Unterschied zwischen dunkel gefärbter Peripherie und heller Mitte erkennen. In dem Protoplasma dieser grösseren Zellen findet man ab und zu ebenfalls einige Fettkörnchen, oft auch schwarzes Pigment in Form von kleinsten Körnchen oder auch von unregelmässigen Schollen, sogenanntes Lungenpigment; häufig finden wir schon bei macroscopischer Betrachtung schwärzliche oder rauchgraue Flecken und Streifen. Bei der microscopischen Analyse constatiren wir dann bald, dass die schwärzliche Färbung lediglich von der reichlichen Anwesenheit der Pigment-tragenden Zellen herrührt, freies Pigment ist gewöhnlich nur in geringer Menge vorhanden. Diese schwarzen Körnchen und Schollen in den Zellen sind nun sämmtlich als inhalirter Kohlenstaub aufzufassen, der auf der schleimigen Oberfläche des Respirationstractus niedergefallen und festgehalten, nachträglich dann in das Innere von amöboiden Zellen aufgenommen worden ist.

Bei Individuen, welche viel Gelegenheit haben, Kohlenstaub einzuathmen, z. B. Kohlenarbeitern, bei starken Rauchern, fehlen diese pigmentirten Zellen in dem Secret der Rachen- und Respirationsschleimhaut fast nie; indessen hat jeder Mensch, der unter unsern Culturzuständen lebt, grösstentheils in geheizten, geschlossenen Räumen, selbst im Freien unter dem Einfluss russender Schornsteine, bei jedem Athemzuge Gelegenheit, Kohlenstaub in feinster Vertheilung in seinen Respirationsapparat einzuführen. Je mehr Schleim auf der Oberfläche des Respirationstractus abgesondert wird, desto mehr von dem Kohlenstaub wird retinirt; ein Theil davon wird durch Hülfe amöboider Zellen in das interstitielle Gewebe der Lungen und in die Lymphdrüsen derselben eingeschleppt, ein andrer Theil wird mit dem Sputum wieder entfernt.

Eigentliches, d. i. im Organismus selbst entstandenes, Pigment kommt in den Sputis ebenfalls, indessen nur sehr selten vor: es charakterisirt sich sofort durch die bräunliche (nicht schwarze) Farbe und deutet entweder auf eine vorangegangene Hämorrhagie oder aber auf eine Stauung im Lungenvenensystem mit Austritt rother Blutkörperchen und Pigmentumwandlung derselben (braune Induration der Lungen). Zuweilen finden sich auch Hämatoidincrystalle.

In den besprochenen grösseren, epithelähnlichen Rundzellen der Sputa kommt nicht selten noch eine Einlagerung homogener, mattglänzender

Körnchen vor, welche wegen einer rein äusserlichen Aehnlichkeit als „Myelinkörner" bezeichnet werden; über ihre Natur und Bedeutung ist etwas Sicheres nicht bekannt.

In den bekannten Aufstellungen von Buhl*) wurde auf diese grösseren Rundzellen in den Sputis ein besonderer Werth gelegt; sie wurden direct als desquamirte Lungenalveolar-Epithelzellen aufgefasst und aus ihrem reichlichen Vorkommen im Auswurf die „desquamative Pneumonie", damit die beginnende Phthisis diagnosticirt. Diese Anschauungen haben sich als unhaltbar erwiesen; man findet oft genug grosse Mengen dieser Zellen, selbst in Haufen zusammengedrängt, und mit „Myelin"-, Fett- und Pigmentkörnern versehen, in dem morgendlichen Sputum von ganz gesunden Menschen**) und bei einfachen Bronchialkatarrhen. Dass man sie wirklich in allen Fällen als desquamirte Epithelzellen der Lungenalveolen anzusehen hätte, ist ebenfalls in hohem Grade unsicher; im Gegentheil ist es durch vielfache Untersuchungen wahrscheinlich geworden, dass unter Umständen gewöhnliche Wanderzellen (lymphoide Zellen etc.) in derartige epithelähnliche Elemente umgewandelt werden können.

Von sonstigen zelligen Elementen findet man zuweilen Fettkörnchenzellen (bei subacut-pneumonischen Processen) und als Seltenheit auch Riesenzellen (bei tuberculöser Phthisis).

c. Elastische Fasern. Fibrinausgüsse. Asthmacrystalle.

Der Befund von elastischen Fasern im Sputum ist naturgemäss von einer sehr hohen Bedeutung, indem wir durch denselben direct den Zerstörungsprocess im Innern der Lunge nachweisen. Man findet, wie schon erwähnt, die elastischen Fasern meist in den beschriebenen undurchsichtigen Pfröpfen; durch Zusatz von starker Essigsäure gelingt es oft, auch sehr dicke Partien dieser Pfröpfe recht durchsichtig zu machen, innerhalb deren dann die elastischen Fasern, welche bekanntlich der Essigsäure resistiren, sehr schön hervortreten. Der Anfänger hält zuweilen kleine Stücken von Baumwollenfasern etc., die ebenfalls der Essigsäure resistiren, für verdächtig; auch Fettsäurenadeln, die in den Sputis bei putrider Bronchitis, Lungengangrän und ähnlichen Affectionen oft in grosser Menge vorkommen, können in ihren langen, geschwungenen Formen möglicher Weise Anlass zur Verwechselung geben; bei leichter Erwärmung schmelzen sie und wandeln sich zu kleinen Fettkörnchen um. Man mache es sich zur Regel, nur dann auf elastische Fasern zu diagnosticiren, wenn mehrere

*) Buhl, Lungenentzündung, Schwindsucht und Tuberculose. München 1872.

**) Vgl. Guttmann und Smidt, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 3. Panizza, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1881. Bizzozero, Centralbl. f. klin. Medicin 1881. S. 529.

derselben zusammenliegen und durch ihren charakteristischen, geschwungenen Verlauf deutlich erkennen lassen, dass das Gerüst einer Alveolenwand vorliegt. Oft genug findet man grössere, zusammenhängende, mehrere Alveolen umfassende Stücke des Lungengerüsts; je reichlicher und je grösser diese (microscopischen) Lungenfetzen, einen desto schwereren und rapideren Zerstörungsprocess wird man annehmen müssen.

Es ist übrigens zu bemerken, dass man bei Lungengrangrän zuweilen in den microscopisch erkennbaren ausgehusteten Lungenfetzen keine elastischen Fasern mehr vorfindet; dieselben werden in putriden Flüssigkeiten allmählich aufgelöst. Traube, der auf dieses Verhalten aufmerksam machte, erblickte hierin ein diagnostisches Kriterium gegen den Lungenabscess, innerhalb dessen die elastischen Fasern sich länger conserviren. Auch bei der gewöhnlichen Verkäsung in der Lunge gehen die elastischen Fasern, allerdings nur sehr allmählich, verloren.

Fibrinöse Massen kommen ebenfalls unter bestimmten Verhältnissen in den Sputis vor, und zwar grobe Fibrinausgüsse der Bronchien bei croupöser Bronchitis und Fibrinausgüsse der feineren Bronchien bei der acuten Pneumonie (Remak). Die schon macroscopisch erkennbaren, dichotomisch verzweigten Fibrinmassen zeigen microscopisch die bekannte Zusammensetzung aus einem Filz feiner Fasern, die mit Essigsäure aufquellen und verschwinden, mit reichlichen eingelagerten Rundzellen und massenhaften Schizomyceten.

Von den Asthmacrystallen haben wir bereits kurz Erwähnung gethan; es sind sehr spitze Octaëder, die im Sputum von Asthmatikern während des Anfalls in den beschriebenen Pfröpfen in grosser Menge gefunden werden, während sie in der anfallsfreien Zeit gewöhnlich fehlen. Uebrigens wurden sie zuweilen auch ohne Asthma im Sputum angetroffen, sind also nicht etwa specifisch für diese Krankheit. Sie sind vollständig analog den Krystallen, die im Sperma, im Knochenmark und Blut, besonders bei Leukämie, und an verschiedenen andern Orten gefunden worden sind, und die nach Schreiner aus dem phosphorsauren Salz einer organischen Base bestehen.

d. Schizomyceten. Tuberkelbacillen. Pneunomie-Micrococcen.

Schicomyceten kommen im Sputum schon wegen der beigemengten Mundflüssigkeiten in grosser Menge vor; dazu kommen die aus dem Respirationsapparat selbst stammenden Formen, z. B. bei Bronchitis putrida und diphtheritica, bei eitrigem Bronchial- und Trachealcatarrh etc. Wir sind indessen noch nicht im Stande, in dem Gewirre der verschiedenen Formen uns zurechtzufinden, die vermeintlichen „Entdeckungen" des Keuchhustenpilzes, des Masernpilzes, der Diphtherie-Micrococcen etc. in den Sputis haben

bei den Kennern dieses Gebietes niemals die geringste Bedeutung gefunden. Dagegen ist der Befund der Tuberkelbacillen im Sputum (Koch) von der allergrössten Bedeutung.

Denn es hat sich bei Anwendung der Ehrlich'schen Färbungsmethode herausgestellt, dass die specifischen Bacillen im Sputum der Phthisiker fast niemals fehlen, und dass andrerseits ihr Vorkommen ein absolut sicheres Criterium für die tuberculös-phthisischen Processe abgiebt. Die Färbungsmethode, welche zugleich mit dem Nachweise der Bacillen auch zugleich ihre Specifität darthut, ist dieselbe, wie wir sie oben für die Tuberkelbacillen in Schnitten angegeben haben. Das erhitzte Trockenpräparat des Sputum wird auf dem Deckgläschen mit einer concentrirten Lösung von Gentianaviolett oder Fuchsin in Anilinwasser (d. i. einer gesättigten, filtrirten Lösung von Anilin) durch 24 Stunden gefärbt; wird die Färbung bei hoher Temperatur vorgenommen, so reicht schon eine ganz kurze Zeit aus; dann wird durch starke Mineralsäuren, etwa Salzsäure von 20%, oder am besten in Alcohol, dem 3% Salpetersäure zugesetzt worden sind, die Entfärbung vorgenommen. Die sämmtlichen übrigen Schizomyceten des Sputum, welche ursprünglich mit gefärbt waren, sind dann entfärbt, ebenso die Schleimmassen etc., nur allein die Tuberkelbacillen treten als intensiv gefärbte Stäbchen hervor. Meist finden wir sie im Sputum im Zustande lebhafter Sporenbildung; die Sporen treten als helle, die ganze Breite des Bacillus einnehmende Kugeln auf. Sind mehrere Sporen in einem Bacillus, so kann dieser dadurch in eine Körnerreihe aufgelöst erscheinen.

Um die Einstellung zu erleichtern, kann man nachträglich noch durch jedes beliebige Tinctionsverfahren eine Grundfärbung anbringen, die dann natürlich einen von den gefärbten Tuberkelbacillen möglichst contrastirenden Farbenton haben muss; in den meisten Fällen finde ich diese Doppelfärbung unnöthig. Vgl. auch S. 51 ff.

Bedeutung des Befundes der Tuberkelbacillen.

Schwere und leichte Formen der Lungenphthisis.

Wir wollen einige Bemerkungen über die diagnostische und prognostische Bedeutung des Befundes von Tuberkelbacillen im Sputum hinzufügen, wobei wir eine kurze Excursion auf das Gebiet der allgemeinen Pathologie der Phthisis nicht vermeiden können.

Die Lungenphthisis gehört in das Gebiet der Tuberculose; die von Reinhardt und Virchow urgirte Trennung der käsigen Pneumonie und käsigen Bronchitis von der eigentlich tuberculösen Form der Phthisis wird natürlich vom descriptiv-anatomischen Standpunkte aus aufrecht erhalten werden müssen, indessen muss die durch-

greifende Scheidung dieser Processe, schon auf Grund der histologischen Verhältnisse, besonders aber vom aetiologischen und vom practischen Standpunkte aus fallen gelassen werden. Schon die genauere histologische Untersuchung zeigte in der käsigen Pneunomie und Bronchitis dieselbe elementare Zusammensetzung, wie in den sogenannten ächten Tuberkeln; der Verfasser hat diesen Nachweis im Jahre 1873 in dem Vortrage „Ueber lokale Tuberculose" (Volkmann's Samml. kl. Vorträge) mit aller Bestimmheit geführt. Bei jeder Phthisis, auch bei den scheinbar nicht tuberculösen Formen, finden sich nämlich stets die charakteristischen, submiliaren gefässlosen Knötchen mit Riesenzellen etc., welche den Haupttypus des zu seiner vollen histologischen Entwickelung gelangten Tuberkels darstellen.

Diese bis dahin unbekannten Thatsachen mussten die Virchow'sche Lehre von der Dualität der Phthisis, die schon vorher ihre grossen Schwierigkeiten hatte, ganz wesentlich einschränken; die alltägliche Beobachtung beispielsweise des Eintritts einer tuberculösen Pleuritis im Verlaufe einer käsigen Pneumonie durfte danach nicht mehr als das Hinzutreten einer neuen Erkrankung (wie Virchow und seine Schule lehrten), sondern vielmehr lediglich als die weitere Ausdehnung desselben Krankheitsvorgangs, der schon vorher in der Lunge bestanden hatte, auf die Pleura angesehen werden.

Die Einfachheit und Klarheit dieser Anschauungsweise gegenüber der früheren Lehre springt sofort in die Augen, trotzdem dauerte es lange Zeit, bis sie zur Anerkennung gelangte.

Mehrere Jahre später hat dann Charcot und seine Schule auf Grund derselben Beobachtungen die „unité de la phthisie" in einer Reihe von Arbeiten vertreten; auch der Standpunkt von Rindfleisch war ein ähnlicher. Durch die späteren experimentellen Untersuchungen von Tappeiner, Cohnheim und Salomonsen und Anderer, welche an die Villemin'sche Entdeckung der Impfbarkeit der Tuberculose anknüpften, und besonders durch die epochemachenden Entdeckungen Koch's ist dann mit der grössten Bestimmtheit dargethan worden, dass der Phthisis und Tuberculose ein und dieselbe aetiologische Entität zu Grunde liegt; wobei natürlich nicht ausgeschlossen ist, dass unter Umständen noch andere Factoren dabei mitspielen.

Die Lungenschwindsucht ist also nach alledem in der That als eine in den meisten Fällen locale Tuberculose der Lungen anzusehen.

Finden wir nun denjenigen Parasiten, von dem wir wissen, dass er Tuberculose erzeugt, in dem Sputum, so ist der zwingende Schluss daraus zu ziehen, dass im Re-

spirationsapparat (Mund- und Rachenschleimhaut mit eingeschlossen) ein tuberculöser Process sich abspielt.

Werden wir daraus den weiteren Schluss ziehen, dass der betr. Mensch der allgemeinen Tuberculose verfallen und in Folge dessen verloren ist? Nein, das wäre ein grober Fehler.

Der Bacillus der Tuberculose findet sich nicht nur in denjenigen Fällen, in denen die Affection mehr oder minder rapide fortschreitet und event. durch Uebergang auf Blut- und Lymphgefässe zur allgemeinen Verbreitung über den Organismus gelangt, sondern auch in solchen Fällen, die lange Zeit, Jahre und Jahrzehnte lang, local begrenzt bleiben und schliesslich sogar vollständig ausheilen können, also in den Fällen von „localer Tuberculose". Der menschliche Organismus verhält sich in dieser Hinsicht wesentlich verschieden von den hauptsächlich zu den Versuchen verwendeten Kaninchen und Meerschweinchen; kommt bei diesen irgendwo, z. B. nach Impfung in die vordere Augenkammer, im Bulbus eine tuberculöse Affection zu Stande, so verbreitet sich, wie es scheint, ausnahmslos die Tuberculose im Laufe einiger Wochen oder Monate über die verschiedensten Organe des Thieres; meist gehen die Thiere an der Affection rasch zu Grunde. Anders scheinen sich Hunde zu verhalten; doch liegen hierüber noch weniger zahlreiche Thatsachen vor. Dagegen steht es vollkommen fest, dass beim Menschen die durch die Tuberkelbacillen verursachte Affection in vielen Fällen durch Jahre und Jahrzehnte hindurch relativ gutartig und local begrenzt bleibt, event. mehr oder minder vollständig ausheilt; allerdings liegt, so lange der Process besteht, stets die Gefahr vor, dass er plötzlich an Intensität zunimmt und, ohne dass wir die veranlassenden Momente nachweisen können, eine locale oder allgemeine rapide Verbreitung annimmt. Der menschliche Organismus scheint in den meisten Fällen einen nur mässig günstigen Nährboden für die Tuberkelbacillen abzugeben, so dass sie sich meist nur sehr spärlich vermehren; kommt unter gewissen, bisher nicht näher bekannten Bedingungen eine schnelle Entwickelung der Parasiten zu Stande, so bewirkt dies ein rasches Fortschreiten des Processes. Leider beherrschen wir zur Zeit diese Bedingungen, durch welche in vielen Fällen die Vermehrung der Parasiten verlangsamt resp. verhindert wird, noch nicht; würden wir dahin gelangen, so hätten wir sofort die Therapie der Tuberculose. Wir dürfen uns der Hoffnung hingeben, dass auch dieses hohe Ziel nicht unerreichbar ist, jedenfalls sind die Wege dazu geebnet.

Finden wir also die Tuberkelbacillen im Sputum, so weisen wir dadurch einen tuberculösen Process nach, welcher möglicherweise durch ausgedehnte, rasche locale Zerstörungen und durch Uebergang auf andere Organe eminent gefährlich werden kann; die Möglichkeit eines sehr lang-

samen, blanden Verlaufs und sogar einer Heilung ist aber ebenfalls vorhanden.

Die Diagnose eines tuberculösen Processes in den Lungen wird jetzt durch den Nachweis der Tuberkelbacillen in vielen Fällen ermöglicht werden, welche früher einer sicheren Diagnose nicht oder nur sehr schwer zugänglich waren. Die Tuberkelbacillen finden sich auf der Oberfläche jeder, auch der kleinsten phthisischen Caverne, auf tuberculösen Defecten der Bronchien etc. in grösster Zahl vor, sie sind bei ihrer ausserordentlich scharfen Charakterisirung durch die isolirte Färbbarkeit deshalb im Sputum viel leichter und rascher aufzufinden, als die elastischen Fasern, durch welche bisher allein der Zerstörungsprocess in den Lungen nachgewiesen werden konnte. Es werden danach bei sorgfältiger Untersuchung der Sputa auch die äusserst zahlreichen, leichten, günstig verlaufenden Fälle von Phthisis als solche erkannt werden, welche früher meist als „verdächtige" Lungencatarrhe, Bronchitis etc. angesehen wurden, selbst solche Fälle, die nur höchst unerhebliche, subjective Beschwerden veranlassen. Und wie eminent zahlreich derartige günstig verlaufende „Phthisen" sind, davon überzeugt man sich am besten am Leichentisch. Bei gesunden kräftigen Individuen, Erwachsenen, die durch ein Accidens, durch eine acute Krankheit etc. zu Grunde gegangen sind, finden wir bei genauem Nachsehen fast in der Hälfte der Fälle die Spuren und Reste von phthisischen Zerstörungsprocessen in der Lunge; und zwar in Form von käsigen, oft kalkig incrustirten Massen, mit Höhlenbildungen, umgeben von schiefrig-indurirtem narbigen Gewebe. Von diesen Fällen sind viele vollständig oder nahezu latent verlaufen, jedenfalls haben die meisten niemals den Verdacht einer schweren Lungenaffection erregt; in allen diesen Fällen aber hätten zu einer gewissen Zeit die Tuberculosebacillen im Sputum nachgewiesen werden können.

Dass übrigens aus solchen, scheinbar in bester Heilung begriffenen oder selbst ganz latent verlaufenden Phthisen, deren Ausdehnung nur ganz unerheblich zu sein braucht, dennoch plötzlich eine tuberculöse Pleuritis, oder selbst eine tödtliche tuberculöse Meningitis etc. hervorgehen kann, das ist jedem Practiker bekannt und wird durch klinische und anatomische Thatsachen oft genug erhärtet.

Wir werden also aus dem Befunde der Tuberkelbacillen im Sputum stets eine ernste, aber durchaus nicht ohne Weiteres eine unbedingt schlechte Prognose abzuleiten haben. Es ist ja bekannt, dass selbst ausgedehnte phthisische Zerstörungen in den Lungen unter günstigen Umständen zum Stillstande kommen und dass nicht jede Phthisis incipiens zur Zerstörung der Lunge führen muss. Jedenfalls aber wird die Diagnose der tuberculösen Erkrankung auf das Regimen des Patienten etc. von bestimmendem Einfluss
Es ist durchaus wahrscheinlich, dass durch die frühzeitige Erkenntniss

der Tuberculose vielen Patienten das Leben erhalten werden kann: indem man sie in solche klimatische etc. Verhältnisse bringt, welche erfahrungsgemäss bei beginnender Phthisis günstig einwirken.

Wie weit aus der Quantität der im Sputum gefundenen Tuberkelbacillen auf die Ausdehnung des phthisischen Processes geschlossen werden darf, müssen erst weitere Untersuchungen lehren.

Andrerseits ist die Abwesenheit von Tuberkelbacillen im Sputum, wenn sie constant bleibt, als ein sicheres Zeichen dafür anzusehen, dass tuberculös-phthisische Zerstörungsprocesse in den Lungen derzeitig nicht stattfinden. Sind zu gleicher Zeit elastische Fasern im Sputum vorhanden, während die Tuberkelbacillen fehlen, so müssen wir auf einen anderweitigen Zerstörungsprocess in der Lunge (Abscedirung, zerfallender Tumor etc.) schliessen.

Es ist übrigens zu bemerken, dass gewisse chronische Ulcerationsprocesse der Lungen vorkommen, die nicht tuberculöser Natur sind, bei denen also Tuberkelbacillen nicht gefunden werden. Es sind das höchst seltene Fälle; bei der diabetischen Zerstörung der Lungen sind von Riegel derartige Beobachtungen gemacht worden; in den meisten Fällen der diabetischen Phthise sind übrigens reichliche Bacillen vorhanden. Das anatomische Bild der Lungen kann in denjenigen Fällen, bei denen die Bacillen fehlen, der gewöhnlichen, tuberculösen Phthisis sehr ähnlich sein.

Es ist wohl selbstverständlich, dass man an die Untersuchung auf Tuberkelbacillen im Sputum nur mit den besten Hülfsmitteln bewaffnet herangeht. Man kann in günstigen Präparaten die Bacillen allerdings schon mit schwächeren Linsen erkennen; sind dieselben sehr zahlreich, so kann man sie zuweilen schon mit blossem Auge durch die Färbungsdifferenz erkennen. Indessen wäre es ganz verfehlt, anders als mit den besten Immersionslinsen Untersuchungen auf Tuberkelbacillen vorzunehmen, denn es ist durchaus möglich und der Verfasser hat oft genug die Erfahrung gemacht, dass die im Präparat vorhandenen Bacillen bei Untersuchung mit etwas schwächeren Systemen (z. B. Trockenlinsen) nicht gefunden, übersehen werden und erst bei entsprechend stärkerer Vergrösserung (wenigstens 600) deutlich hervortreten. Jedenfalls ist es unmöglich ein negatives Urtheil betreffs der Tuberkelbacillen abzugeben, ohne Anwendung starker, vorzüglicher Immersionssysteme, am besten der Oelimmersionen und selbstverständlich des Abbé'schen Apparats. Wer die Kosten der Anschaffung dieser nicht ganz wohlfeilen Hilfsmittel scheut oder vor der Unbequemlichkeit des Arbeitens mit denselben zurückschreckt, der muss auf die Ausführung von Schizomycetenuntersuchungen verzichten.

Pneumonie-Micrococcen.

Bekanntlich hat sich an den Micrococcen der acuten croupösen Pneumonie eine eigenthümliche Structur, eine Kapselbildung, constatiren lassen, die besonders bei Färbung des Trockenpräparats mit Gentianaviolett oder Fuchsin deutlich hervortritt. Die Kapsel wird hierbei schwächer gefärbt als der eigentliche Coccus, sie ist nach aussenhin gewöhnlich scharf conturirt. Ob diese eigenthümliche Structur für die Diagnose oft wird verwerthet werden können, ist bisher noch zweifelhaft; es liegen bereits von mehreren Beobachtern anscheinend positive Befunde nach dieser Richtung vor. Indessen kommen auch ohne Pneumonie zuweilen Kapselmicrococcen im Sputum vor, sodass Vorsicht geboten ist; jedenfalls sind farblose Räume um Micrococcen ein häufiger Befund, der sehr wenig bedeutet, während die Pneumonie-Micrococcen färbbare Kapseln tragen.

3. Eiter.

Der Eiter besteht im Allgemeinen aus einer Flüssigkeit (Eiterserum) und darin suspendirten kleinen Rundzellen, den Eiterkörperchen; ausserdem enthält er in den meisten Fällen auch Microorganismen.

a. Eiterkörperchen und Fettkörnchenzellen.

Die Eiterkörperchen sind den weissen Blutkörperchen, Lymphkörperchen etc. sehr ähnlich, resp. mit diesen identisch. In frischem Zustande untersucht, d. h. in einem Eiter, der erst vor kurzer Zeit abgesondert worden ist, zeigen sie amöboide Bewegungen und haben dann das charakteristische, glänzende Aussehen des lebenden Protoplasmas. In den meisten Fällen indessen sind sie bereits abgestorben, ihr Protoplasma ist dann grobkörnig geronnen; der Kern resp. die Kerne sind gewöhnlich verdeckt. Vielfach sieht man in dem Protoplasma eingestreute feinste Fettkörnchen, und zwar reichlich in solchen Eiterkörperchen, welche schon längere Zeit abgestorben sind, also besonders im Inhalt der sogenannten kalten Abscesse.

Die Eiterkörperchen sind untereinander meist von annähernd gleicher Grösse; etwa entsprechend den mittleren weissen Blutkörpern. Oft indessen sind grössere Zellen mit beigemischt, gewöhnlich mit bläschenförmigem Kern; sammeln sich in diesen reichliche Fettkörnchen an, so entstehen die bekannten Fettkörnchenzellen; auch diese sind zuweilen noch lebendig und machen amöboide Bewegungen. Sie kennzeichnen sich schon bei der schwachen Linse als grössere, dunkle Häufchen zwischen den gewöhnlichen Eiterzellen; die Dunkelheit derselben bei schwacher Vergrösserung verleitet den Anfänger nicht selten, an Pigmentirung zu denken, sie ist aber lediglich durch durch die vielen übereinander gelegenen Fettkörnchen bedingt. Das von unten her einfallende Licht wird bei den vielfachen Uebergängen

aus der Flüssigkeit in die Fetttröpfchen, aus diesen wieder in die Flüssigkeit resp. die protoplasmatische Substanz, wie von reflectirenden, kugelig gewölbten Spiegelflächen zurückgeworfen, gelangt also nicht in das Auge des Beschauers, daher der Eindruck des Schwarzen. Dagegen erscheint natürlich dieselbe Fettkörnchenzelle hellweis, wenn wir sie von oben beleuchten, eben in Folge der vielen reflectirenden Flächen; wenn wir daher das Licht des Spiegels abblenden, so erscheinen die Fettkörnchenzellen als weissglänzende Kugeln im dunkeln Gesichtsfelde (vorausgesetzt, dass das Licht von oben her überhaupt an das Präparat gelangen kann; die starken Objectivsysteme müssen gewöhnlich dem Präparat so sehr genähert werden, dass sie es vollständig beschatten).

Indessen sind auch wirkliche Pigmentkörner, meist in Zellen eingeschlossen, nicht selten im Eiter vorhanden, als Residuen von Blutaustretungen; sie sind durch eine bräunliche Farbe charakterisirt, zuweilen finden sich auch Hämatoidincrystalle.

b. Beimengungen.

Der Eiter stammt entweder von einer freien Oberfläche (Schleimhaut, seröse Membran, Ulcerationsfläche etc.) oder mitten aus dem Gewebe; in beiden Fällen enthält er oft die Bestandtheile seines Ursprungsortes beigemengt. Da nun dieser letztere in vielen Fällen nicht von vorn herein bekannt ist, sondern gesucht wird, so ist es klar, dass gerade die Beimengungen des Eiters von hoher diagnostischer Bedeutung werden.

So wird die wichtige Frage, ob ein Abscess mit dem Knochen zusammenhängt, oft genug durch genaue microscopische Untersuchung des Eiters entschieden; die unregelmässig gestalteten Knochenfragmente, die im Eiter in diesen Fällen gefunden werden und oft mit buchtigen Resorptionsflächen, den sogen. Howship'schen Lacunen, versehen sind, geben dann absolut sichere Beweisstücke ab. Sie sind durch den starken Glanz ihrer verkalkten Grundsubstanz und durch die charakteristischen stern- oder spinnenförmigen Knochenkörperchen sehr scharf gekennzeichnet; man findet sie schon mit schwacher Linse; falls es nothwendig ist, so hellt man das Präparat mit Kalilösung auf, so dass die Eiterzellen verschwinden; falls der Eiter nicht allzu dick ist, so lässt man sedimentiren und untersucht den Bodensatz.

In anderen Fällen finden wir Nahrungsbestandtheile und schliessen daraus auf eine Communication mit dem Verdauungscanal; oder wir finden Epithel, Tumorelemente etc. und erhalten auf diese Weise oft ganz überraschende diagnostische Aufklärungen, die oft auch direct zu therapeutischer Verwendung gelangen.

Beispiel: In dem Eiter eines im Wochenbett aufgetretenen Abscesses der neben der Schilddrüse lag, fanden sich verhornte platte Epidermiszellen in grosser Zahl und reichliches Cholesterin; man diagnosticirte sofort eine vereiterte Kiemencyste und exstirpirte den Sack. Auch vereiterte Echinococcensäcke werden häufig erst durch microscopische Untersuchung des Eiters richtig erkannt, indem man entweder ganze Scolices oder die charakteristischen Haken, oder die geschichteten homogenen Membranen nachweist.

c. Schizomyceten und Actinomyceten.

In dem Eiter der acuten Abscesse*) finden sich sehr reichliche Micrococcen, meist in Kettenform angeordnet, die entweder ohne Weiteres bei der frischen Untersuchung oder nach den bekannten Färbungsverfahren sichtbar gemacht werden.

Bei chronischen Eiterungen ist das Vorhandensein von Microorganismen inconstant; natürlich reden wir hierbei nur von solchen Fällen, bei denen der Eiter nicht mit der äusseren Luft communicirt; in diesen finden sich natürlich saprophytische Microorganismen stets vor.

Bei tuberculösen Eiterungen (periarticulären Abscessen und Gelenkeiterungen, bei Arthritis fungosa, scrophulösen und cariösen Abscessen, käsig-eitriger Lymphadenitis etc.) sind natürlich oft genug Tuberkelbacillen vorhanden, die dann stets von pathognomonischer Bedeutung sind. Dagegen ist ihr Vorkommen nicht so regulär wie bei der Lungenphthise; in vielen ächt tuberculösen Abscessen sind Bacillen nicht zu finden, nach Schlegtendal (Fortschr. d. Med. 1883, S. 537) etwa in der Hälfte der Fälle.

Seltener finden sich anderweitige Organismen im Eiter; wobei wir von denen absehen wollen, die rein accidentell und nachträglich im Eiter zur Entwickelung kommen, z. B. diejenigen Micrococcen, welche die Färbung des „blauen Eiters“ bedingen.

Die Actinomyceten, die beim Menschen zuerst von Langenbeck, später von J. Israël, Ponfick u. A., beim Rindvieh von Bollinger gefunden wurden**), sind schon macroscopisch in Form von gallertigen, hiersekorngrossen Körnern im Eiter zu erkennen; beim Zerdrücken der Körner tritt die eigenthümliche Structur direct zu Tage; eine Färbung ist überflüssig.

4. Urin.

Bei der microscopischen Untersuchung der geformten Bestandtheile des Urins kommen zunächst in Betracht:

---

*) Vgl. Ogston, über Abscesse. Arch. f. klin. Chir. Bd. 25.

**) Vgl. Ponfick, die Actinomycose, Berlin 1882.

a. Niederschläge und Crystalle.

Die in der Körpertemperatur de norma in Lösung gehaltenen harnsauren Salze, hauptsächlich harnsaures Natron, fallen beim Erkalten des Urins, wenn sie in etwas grösserer Menge vorhanden sind, in Form von feinen, oft etwas unregelmässig gestalteten Körnchen nieder. Der Vf. hat es oft genug erlebt, dass dieselben von Unkundigen für Micrococcen, ihre zitternde Molecularbewegung für vitale Locomotionen gehalten wurden. Die harnsauren Salze lösen sich schon bei leichter Erwärmung; ebenso bei Zusatz von Säuren, wobei sich Harnsäure in charakteristischen meist prismatisch geformten, oft bräunlich gefärbten Crystallen abscheidet.

Bei fieberhaften Zuständen, bei der Gicht etc., ist das harnsaure Natron gewöhnlich stark vermehrt; oft findet die Abscheidung der Harnsäure in dem Urin einige Zeit nach der Entleerung spontan statt, d. h. ohne dass Säuren zugesetzt worden sind. Man bezeichnete das früher als „saure Harngährung“, aber mit Unrecht; es handelt sich nur darum, dass das saure phosphorsaure Natron unter Zerlegung des harnsauren Natrons in basisch-phosphorsaures Natron übergeht, wobei die Harnsäure frei wird. Eine eigentliche saure Harngährung, mit Zunahme der sauren Reaction des Urin, kommt nur bei Diabetes zu Stande (Voit und Hofmann).

Zu gleicher Zeit mit den Harnsäurecrystallen findet oft auch eine Abscheidung von oxalsaurem Kalk in Form kleiner, glänzender Octaëder statt, die von oben gesehen wie „Briefcouverts“ erscheinen. Bei abnorm reichlichem Gehalt des Urins an Oxalaten spricht man von „Oxalurie“; bekanntlich bildet der oxalsaure Kalk den Hauptbestandtheil einer wichtigen Klasse von Harnsteinen.

In dem aus dem Körper entleerten Urin kommt dann regelmässig die alkalische resp. ammoniakalische Harngährung zu Stande, d. i. eine Umsetzung des Harnstoffs in kohlensaures Ammoniak, welche bedingt wird durch ein von Musculus isolirtes, ungeformtes Ferment. Dieses Ferment wird aber seinerseits stets von Microorganismen, und zwar von Schizomyceten erzeugt. Gelangen die Organismen resp. deren Keime zu dem in der Blase befindlichen Urin, was hauptsächlich durch den Catheterismus geschieht, so kann die alkalische Harngährung, besonders wenn der Urin in der Blase stagnirt, also bei Lähmungszuständen der Blase, schon innerhalb der Blase eintreten.

Bei der alkalischen Harngährung findet eine starke Trübung des Urins statt; dieselbe wird (abgesehen von den Schizomyceten) gebildet durch:

1. Phosphorsaure Ammoniakmagnesia (Tripelphosphat) in der bekannten Form der Sargdeckelcrystalle, in Säuren sofort löslich.

2. harnsaures Ammoniak, in Form von „Morgensternen", Kugeln, die mit feinen Spitzen besetzt sind.

3. phosphorsauren Kalk, der einen amorphen Niederschlag bildet.

Unter pathologischen Verhältnissen finden wir nun ausser den schon genannten Substanzen, die zuweilen in enormer Menge vorkommen („Harngries") noch verschiedene andere krystallinische und körnige Niederschläge; so das Cystin in sechsseitigen, regelmässigen Tafeln (Cystinurie), das Xanthin und verwandte Körper; das Tyrosin in Form von garbenartig zusammenliegenden Nadeln, meist gelblich gefärbt, besonders bei acuter gelber Leberatrophie; Gyps, phosphorsaurer und kohlensaurer Kalk etc.; alle diese Niederschläge sind durch einfache microchemische Reactionen meist sehr leicht zu bestimmen. Die chemischen Handbücher müssen dabei zu Rathe gezogen werden.

b. Harncylinder*).

Wir haben hauptsächlich drei Arten der Cylinder zu unterscheiden, die hyalinen, die wachsartigen und die braunen Cylinder. Die hyalinen bestehen aus einer sehr zart conturirten, vollständig dursichtigen Substanz und können deswegen leicht übersehen werden; manchmal sind sie durch aufgelagerte Fettkörnchen mehr ins Auge fallend. Ihre Breite beträgt oft nur etwa den Durchmesser eines rothen Blutkörperchens, meist aber darüber. Bei den verschiedensten pathologischen Processen finden wir sie im (eiweisshaltigen) Urin, auch in Fällen, in denen weder entzündliche, noch sonst ähnliche Processe in den Nieren vorhanden sind; bei vielen fieberhaften Zuständen, bei Icterus etc. Sie sind demnach als Begleiterscheinung jeder, auch der leichtesten Albuminurie anzusehen.

Dagegen sind die wachsartigen Cylinder, wenn sie in grösserer Zahl gefunden werden, von nicht unerheblicher diagnostischer Bedeutung; sie sind stets als sichere Zeichen einer Nierenaffection anzusehen, und zwar kann es sich dabei sowohl um Stauung, wie um eigentliche Nephritis handeln.

Die wachsartigen oder colloiden Cylinder bestehen aus einer stärker conturirten, mehr oder minder glänzenden oder auch durch Einlagerung feinster Körnchen leicht getrübten Substanz; im letzteren Falle hat man sie wohl auch als besondere Art mit dem Namen: körnige Cylinder bezeichnet.

---

*) Sie sind durch Henle im Urin entdeckt und alsbald auf Grund von Leichenuntersuchungen als Ausgüsse der Harncanälchen erkannt werden. Zeitschr. f. rat. Med. Bd. 1.

Sie sind von sehr verschiedener Breite, bis 0,05 mm. und darüber; ihre Form ist meist genau cylindrisch, mit kreisförmigem Querschnitt, indessen haben sie zuweilen unregelmässige, ausgenagte Ränder (besonders bei der acuten Nephritis). Sehr oft sind sie mit kleinen Rundzellen, Fetttröpfen, nicht selten auch mit Epithelzellen besetzt; ja es giebt Formen von Cylindern, die fast ganz aus mehr oder minder fest verschmolzenen Epithelzellen bestehen (Epithelialcylinder). Die frühere Bezeichnung „Fibrincylinder" ist mit Recht allseitig verlassen worden; die Substanz der Cylinder ist von dem Fibrin wesentlich verschieden; durch Essigsäure werden sie weder gelöst, noch quellen sie darin an, nur pflegt ihre glänzende Beschaffenheit, ihre dunkle Conturirung und event. ihre körnigen Einlagerungen durch die Essigsäure verloren zu gehen; so dass sie dann das Aussehen der blassen, hyalinen Cylinder annehmen.

Durch Jod werden die Cylinder leicht gelb gefärbt, die wachsartigen Cylinder in vielen Fällen sogar dunkelgelb bis rothbraun.

Auf die Controversen über die Entstehung der Cylinder haben wir an dieser Stelle nicht einzugehen; die hyalinen Cylinder scheinen ein directes Product der Exsudation zu sein, während die wachsartigen Cylinder wenigstens zum Theil aus zu Grunde gegangenen Epithelzellen hervorgegangen sein mögen.

Eine besondere Art von schmalen, bräunlichen Cylindern hat Riedel*) im Urin während der ersten Tage nach Knochenbrüchen entdeckt; er erklärt dieselben mit grosser Wahrscheinlichkeit als Producte des in den Kreislauf gelangten Fibrinferments. In diesen Fällen findet man ausserdem sehr gewöhnlich grössere oder kleinere Mengen von Fett, welches in Form kleiner Tröpfchen in den obersten Schichten des Urins sich ansammelt. Dieses Fett ist durch das Trauma in das kreisende Blut gelangt, wird in die Nierengefässe embolisirt und dann allmählich mit dem Harn ausgeschieden. Auch bei Nierenblutungen und bei haemorrhagischer Nephritis kommen oft braune Cylinder, durch veränderten Blutfarbstoff tingirt, zur Beobachtung, oft auch eigentliche Blutcylinder.

c. Eiter- und Schleimzellen. Epithelien.

Lymphoide Zellen, Eiter- und Schleimkörper kommen oft im Urin vor; sie können aus den Nieren oder den Harnwegen abstammen, oder aber sie stammen von einem in die Harnwege irgendwo durchgebrochenen Abscess. Auch Epithelzellen finden sich oft, deren Herkunft nicht immer mit Sicherheit festzustellen ist. Bei Urethral- und Blasencatarrhen findet man zuweilen Epithelzellen, in deren Innern eine oder mehrere lymphoide Zellen

*) Riedel, über das Verhalten des Urins bei Knochenbrüchen. Dtsch. Zeitschr. f. Chir., Bd. 10.

eingeschlossen sind; früher hielt man dieselben für endogen entstanden, jetzt wohl allgemein für invaginirt (Volkmann und Steudener), d. h. nachträglich in das Innere der Epithelzellen eingedrungen.

Fettkörnchenzellen kommen nur selten im Urin vor; Leyden fand sie bei acuter Nephritis.

d. Tumorbestandtheile

sind im Urin mit einiger Umsicht nicht schwer zu diagnosticiren, allerdings nur für denjenigen, der die epithelialen Elemente der Nieren und der Harnwege genau kennen gelernt hat. Besonders die äusserst multiformen und zum Theil mächtig grossen, mit mehreren Kernen versehenen Epithelzellen der Harnblase sind schon oft fälschlicher Weise für Krebszellen gehalten worden.

Auch diphtheritische und tuberculös käsige Massen können im Urin vorhanden sein, gewöhnlich stammen sie aus der Blase.

e. Entozoën

kommen nur höchst selten im Urin vor; Echinococcen, ausserdem Filarien, die letzteren bis jetzt nur in den Tropen, in Fällen von Chylurie gefunden, ebenso Eier von Distoma haematobium. Vielfache Beobachtungsfehler in dieser Richtung sind begangen worden; ein Autor z. B. beschrieb Eier von Strongylus gigas, die er im Urin gesehen haben wollte; bei näherer Untersuchung stellte sich heraus, dass er die Körner von Semen Lycopodii, die durch Verunreinigung in die Präparate gekommen waren, für Eier gehalten hatte.

f. Pflanzliche Parasiten.

In sehr seltenen Fällen ist Sarcine im Urin gefunden worden.

Was das Vorkommen von Bacterien und Micrococcen im Urin betrifft, so ist zur Constatirung derselben natürlich eine absolut frische Untersuchung erforderlich; der normale Urin ist stets frei von derartigen Organismen, kann aber schon wenige Stunden nach der Entleerung grosse Mengen derselben enthalten. In grösster Menge kommen sie, wie zuerst Traube nachgewiesen hat, im frischen Urin in denjenigen Fällen zur Beobachtung, bei denen nach dem Catheterismus die ammoniakalische Zersetzung des Urins in der Blase und in Folge dessen Cystitis eingetreten ist. Dann finden wir im Urin neben grossen Mengen Tripelphosphat, lymphoiden Zellen etc. massenhafte Schwärme von Stäbchen und Körnern, die mit den basischen Anilinfarben intensiv gefärbt werden und oft in grossen Zoogloeahaufen zusammengeballt sind. In diesen Fällen wandern die Schizomyceten, deren Keime durch den Catheter in die Blase

hinein gelangt sind, sehr oft durch die Ureteren bis in das Nierenbecken und das eigentliche Nierenparenchym hinein und finden sich dann im Innern der pyelonephritischen Abscesse (Klebs).

Bei verschiedenen Infectionskrankheiten, besonders bei metastasirenden Eiterungen, gelangen die Organismen aus dem Blute in den Urin, wie man mit Sicherheit nachweisen kann; indessen sind noch wenig zuverlässige klinische Untersuchungen hierüber bekannt geworden.

Diejenigen Formen der Schizomyceten, welche das den Harnstoff zersetzende Ferment liefern, gehen niemals, soweit bis jetzt bekannt, aus dem Blute in das Nierensecret über (wahrscheinlich wohl deshalb, weil sie im Blute nicht vorhanden sind), sondern werden stets von aussen eingeführt. Dagegen müssen sie im Verdauungscanal vorhanden sein, denn der in den Darmcanal gelangte Harnstoff (in Fällen von Urämie) wird sehr bald in kohlensaures Ammoniak umgewandelt.

Die Trippermicrococcen, die bei Cystitis gonorrhoica im Urin vorhanden sind, zersetzen den Harnstoff nicht.

Bei Tuberculose der Nieren und der Harnwege sind die Tuberkelbacillen in mehreren Fällen von mir im Urin, zuerst nur an der Leiche, nachgewiesen worden; später wurden sie mehrfach auch beim Lebenden constatirt und zur Diagnose benutzt. Die Prognose der tuberculösen Erkrankungen des Harnapparats ist in den meisten Fällen eine sehr ungünstige.

5. Secrete des Genitalapparats.

a. Vaginalsecret.

Das Vaginalsecret besteht aus einer Flüssigkeit, in der mehr oder minder reichliche, grosse, unvollständig verhornte Plattenepithelzellen und ausserdem Rundzellen vorhanden sind. Die letzteren sind von verschiedener Grösse, von der Grösse der weissen Blutkörperchen an bis zu vierfach bis fünffach grösseren Formen; die grösseren Rundzellen enthalten meist reichliche Fettkörnchen.

Microorganismen kommen in dem Scheidensecret in grosser Zahl vor; ebenso wie in der Mundhöhle sind hier alle Bedingungen für eine reichliche Entwickelung schädlicher und unschädlicher Parasiten gegeben.

Zu den unschädlichen Parasiten gehört jedenfalls der von Donné im Scheidenschleim entdeckte Trichomonas vaginalis, ein mit Geisselfäden und Wimperhaaren versehenes, lebhaft bewegliches Infusorium.

Auch Schimmelpilze kommen auf der Vaginalschleimhaut vor besonders bei Schwangeren; wenn sie in grösseren Mengen sich entwickeln so bedingen sie weissliche Plaques und leichte Entzündung der Schleimhaut. Nach Haussmann ist es Oidium albicans, der Soorpilz, durch Infection mit demselben kann der Soor der Neugeborenen entstehen.

Die vielen im Vaginalsecret vorkommenden Schizomyceten sind bis jetzt nicht oder nur unvollkommen von einander zu trennen; über die Trippermicrococcen siehe unter c.; dieselben sind bis jetzt ebenfalls noch nicht so exact charakterisirt, dass sie zur Diagnose bei zweifelhaften Fällen dienen könnten.

b. Uterinflüssigkeiten.

Dysmenorrhoische Membranen.
Decidualfetzen.
Die Diagnose des Uteruscarcinoms.

Ausser dem normalen Schleimpfropf des Collum uteri, welcher nur spärliche lymphoide Zellen enthält, finden wir bei entzündlichen Zuständen ein flüssiges, oft eiterartiges Secret der Uterinschleimhaut, in welchem ausser lymphoiden Zellen auch reichliche Cylinderzellen, meist ohne Flimmersaum vorkommen.

Die Menstrualflüssigkeit besteht hauptsächlich aus Blut; das Lochialsecret enthält ausserdem reichliche Elemente der Eihautreste, besonders der tiefsten Decidualschicht, welche post partum im Uterus zurück bleibt. Besonders charakteristisch sind die Epithelzellen der untersten Drüsenenden mit ihrem hellen, fast vacuolenartigen Kern.

Waren Theile der Placenta zurückgeblieben, so finden sich in den Lochien oft auch kleinere oder grössere Placentastückchen; die Structur und Form der baumförmig verästelten Placentazotten (Chorionzotten) ist so charakteristisch, dass man sie stets sofort als solche erkennt. Häufig kommt es in solchen Placentaresten zur Kalkincrustation, so dass dann zuweilen selbst feste Concremente aus der Uterushöhle ausgestossen werden; die histologische Untersuchung derselben giebt sofort ihre Herkunft zu erkennen.

Bei gewissen Formen von Dysmenorrhoe kommt es bekanntlich zur Ausstossung von Membranen, oft unter wehenartigen Schmerzen. Die Untersuchung dieser dysmenorrhoischen Membranen ergiebt regelmässig, dass sie Stücke der Uterinschleimhaut selbst darstellen; auch die schlauchförmigen Drüsen und ihre Oeffnungen an der Innenfläche sind daran zu constatiren. Man nannte solche Membranen früher meist: „Decidua menstrualis" und discutirte wohl auch die Frage, ob es sich in diesen Fallen nicht eigentlich um einen Abortus in den ersten Wochen der Schwangerschaft handele. Ob dies der Fall ist, oder nicht, entscheidet die histologische Untersuchung. Denn die histologische Structur der Decidua graviditatis, d. h. der durch Gravidität veränderten Uterusschleimhaut, ist eine sehr deutlich verschiedene und für den Process der Gravidität vollkommen specifisch. Das Interglandulargewebe der Uterusschleimhaut besteht nämlich so weit bisher bekannt unter allen Umständen, wie bei der

menstruellen Schwellung, ebenso in den dysmenorrhoischen Membranen bei den verschiedensten Formen der Endometritis, bei der Schwellung der Schleimhaut in Folge von Uterusmyomen etc., stets aus kleinen Rundzellen von der Grösse der Lymphoidzellen, mit sehr wenig Protoplasma. Nur allein die Gravidität bewirkt eine charakteristische Veränderung der Zellen, wir finden schon im ersten Beginn der Schwangerschaft in der geschwollenen Uterusschleimhaut die bekannten grossen Decidualzellen, fünf bis zehnmal grösser als Lymphoidzellen, mit reichlichem Protoplasma versehen, rundlich oder polygonal, auch mit Fortsätzen versehen. Diese Grösse und Gestalt behalten dann die Zellen der Decidua bis zum Ende der Schwangerschaft; das Gewebe der Decidua ähnelt, wenn man von den Drüsen absieht, manchen Formen von grosszelligen Sarcomen. Auch bei Extrauterinschwangerschaft findet bekanntlich regelmässig eine Schwellung der Uterusschleimhaut statt, oft werden auch Fetzen derselben ausgestossen; auch hier lässt sich stets der charakteristische Bau der Decidua, die grossen Zellen nachweisen. (Wyder).*)

Wir sind demnach mittelst der Untersuchung der aus dem Uterus abgegangenen Membranen in der Lage, mit Bestimmheit Gravidität zu diagnosticiren resp. auszuschliessen. Moericke**) hat dieselben Verhältnisse an Schleimhautstückchen constatirt, die er mit dem scharfen Löffel aus der Uterushöhle entfernte.

Carcinom oder Erosion, resp. Adenom?

Bei Carcinoma uteri finden sich oft in der von der krebsigen Ulceration abgesonderten Flüssigkeit zellige Elemente oder selbst grössere Bröckel und Fetzen suspendirt, deren microscopische Structur die Diagnose bestätigen hilft. In zweifelhaften Fällen dagegen, wo es sich um die Frage handelt, ob Carcinom oder gutartige Erosion, wird die Untersuchung des Secrets allein wohl niemals genügen; in solchen Fällen wird dann oft die Excision kleiner Stücke vorgenommen, durch deren histologische Untersuchung die Diagnose festgestellt werden soll. Wir wollen wegen der practischen Bedeutung der Frage einige Bemerkungen darüber hier einschalten.

Der Grund einer Erosion besteht aus Granulationsgewebe; welches meist von einem mehrschichtigen Epithel überzogen ist; von diesem Epithel pflegen dann drüsenartige, mit Lumen versehene Einsenkungen in die Tiefe des Granulationsgewebes einzudringen, häufig aber auch solide Epithel-

*) Wyder, Arch. f. Gynäkologie Bd. 13.
**) Moericke, Zeitsch. f. Gynäk. Bd. 7.

stränge, die sich theilen und zu unregelmässigen Netzen mit einander in Verbindung treten.

Wie man sofort bemerkt, ist dies eine vollkommen krebsähnliche Structur, trotzdem kommt sie bei ganz einfachen, gutartigen Erosionen vor. Ein unvorsichtiger Beurtheiler, der hieraus ohne Weiteres einen Krebs diagnosticirt, kann damit leicht viel Unglück anrichten; er wird verstümmelnde und gefährliche Operationen in Fällen vornehmen, in denen eine Radicalexstirpation nicht indicirt ist. Es muss also noch ein anderes Moment hinzukommen, ehe man die folgenschwere Diagnose auf Krebs zu stellen hat. Die in das Granulationsgewebe secundär eindringende Epithelwucherung*), die oft genug vollkommen atypisch wird, ist nun nicht etwa auf die Erosionen des Uterus beschränkt, sondern kommt sehr häufig und an den verschiedensten Orten zu Stande (Haut, Leber, Lunge etc.); sie kann überall da zu Stande kommen, wo Granulationsgewebe mit epithelialen Flächen in directe Beziehung tritt. Die atypische Epithelwucherung ändert an dem Charakter der ursprünglichen Affection, welche zur Bildung des Granulationsgewebes geführt hat, gar nichts; sie ist ein vollständig gutartiger, unschädlicher Vorgang und würde uns vom praktischen Standpunkte aus nur wenig interessiren, wenn nicht gerade die Structur der Krebse, besonders im Anfange, die vollständigste Aehnlichkeit mit den gutartigen atypischen Epithelwucherungen hätte.

Man hat ja sogar den Krebs von histologischer Seite als „atypische Epithelwucherung" definirt (Waldeyer). Diese Definition reicht indessen nicht aus; wir müssen als nothwendige wichtigste Eigenschaft des Krebses hinzufügen: „von bösartigem Charakter"; wir verlassen damit das rein histologische Gebiet, denn weder an der Zelle, noch an dem Gewebe ist der „bösartige Charakter" direct zu erkennen. Trotzdem dient zum Nachweis der Bösartigkeit wiederum die microscopische Untersuchung; denn die Bösartigkeit des Processes ist dann erwiesen, wenn derselbe schrankenlos durch verschiedene Gewebe zerstörend hindurchwuchert; während eine gutartige Neubildung auf das Gewebe, von dem es ausgegangen ist, beschränkt bleibt und die Nachbarschaft entweder ganz unberührt lässt oder doch lediglich verdrängend wirkt.

Finden wir z. B. am Uterus den Process nicht auf die Schleimhaut beschränkt, sondern auch in der Musculatur; finden wir die Musculatur theilweise ersetzt durch ein von von atypischen Epithelsträngen durchzogenes Granulationsgewebe**), dann haben wir eine evidente Malignität vor uns und dann erst diagnosticiren wir mit Sicherheit auf Krebs.

*) Vgl. C. Friedländer, über Epithelwucherung und Krebs. Strassburg 1877.
**) Das Stroma in jungen Krebsgewächsen ist ja gewöhnlich Granulationsgewebe.

Die zur histologischen Untersuchung exstirpirten Stückchen müssen also mindestens einen Theil der Muscularis mit enthalten; ohne die Erkrankung in der Muscularis nachgewiesen zu haben, können wir in den meisten Fällen die Krebsdiagnose nicht sicher motiviren.

Ich stehe hiermit im Gegensatz zu C. Ruge*), der ein sehr einfaches Mittel vorschlägt, um die krebsige Ulceration von der gutartigen Erosion zu unterscheiden.

Ruge giebt an, dass die Epithelzellenstränge beim Krebs solide, bei einfachen Erosionen dagegen mit Lumen versehen seien, und das ist sicher für viele Fälle richtig. Wenn er aber meint, dass dieser Unterschied ausnahmslos gilt und demnach zur Diagnose verwendet werden kann, so ist er vollständig im Irrthum; denn einerseits haben in vielen Fällen von ächtem, bösartigem Krebs die Zellenstränge das schönste regelmässige Lumen, andererseits kommen bei gutartigen Erosionen sehr häufig solide Epithelzapfen zur Beobachtung, wie man besonders durch Leichenuntersuchungen leicht nachweisen kann. Das von Ruge angegebene Kriterium für die Diagnostik des Krebses muss danach als vollkommen unzuverlässig zurückgewiesen werden.

Dieselben Grundsätze der Beurtheilung sind auch bei allen anderen Organen zu befolgen; so lange wir atypische Epithelneubildungen an Orten vorfinden, wo von vornherein schon Epithel vorhanden ist, also in der Cutis, den Schleimhäuten, allen ächten Drüsen etc., werden wir stets noch den besonderen Nachweis der Bösartigkeit zu führen haben, ehe wir die Diagnose auf Krebs stellen. Finden wir indessen die atypischen Epithelstränge anderwärts, z. B. in der Musculatur,**) im Knochen, in Lymphdrüsen, so ist dadurch eo ipso direct der fressende, resp. der metastasirende Charakter der Affection gegeben und wir diagnosticiren nothwendig auf Krebs.

Manche Autoren benutzen den Terminus Epitheliom synonym mit Krebs, was meiner Ansicht nach nicht zu empfehlen ist. Wir wollen den Ausdruck „Epitheliom" als allgemeinen Begriff für epitheliale Tumoren aller Art festhalten; für die bösartigen unter ihnen haben wir dann den Ausdruck „Krebs"; den Ausdruck „Adenom" wendet man am besten lediglich für gutartige Wucherungen an.

Wir kennen die Ursache der Malignität der Krebse bis jetzt noch gar nicht, trotzdem sind wir in der Lage, auf Grund tausendfältiger Er-

*) C. Ruge, Berl. klin. Wochenschr. 1878.

**) In teratoiden Neubildungen können epitheliale Züge auch mitten in anderen Geweben gefunden werden, ohne dass damit ein bösartiger Charakter derselben gegeben wäre. In Myomen des Uterus sind in seltenen Fällen Cysten, die mit Flimmerepithel ausgekleidet waren, gefunden worden. (Babesiu, Diesterweg.)

fahrung überall da, wo die Diagnose „Krebs“ (nach den eben ausgeführten Principien) gemacht werden muss, sofort mit grosser Sicherheit die lethale Prognose zu stellen; wenn nicht eine totale Exstirpation vorgenommen wird, geht der Kranke in kürzester Zeit, binnen wenigen Jahren, zu Grunde. Von dieser empirischen Regel giebt es nur sehr selten Ausnahmen; es kommen z. B. gewisse Formen flacher Hautkrebse (Ulcus rodens) vor, die einen sehr protrahirten Verlauf nehmen können.

Andrerseits ist man im Stande, das Vorhandensein einer unmittelbaren Gefahr auszuschliessen, wenn die oben auseinander gesetzten Kriterien der Malignität fehlen; dass zuweilen aus einer ursprünglich gutartigen Neubildung späterhin ein Krebs entstehen kann, ist natürlich nicht unmöglich, indessen liegt eine bestimmte Gefahr nur dann vor, wenn der bösartige Charakter der Affection nachgewiesen ist.

Die Diagnose kann unter Umständen schwierig werden, wenn zu einem an sich destructiven Process, z. B. zu einer syphilitischen oder tuberculösen Ulceration secundär eine atypische Epithelwucherung sich gesellt; in solchen Fällen ist besondere Vorsicht geboten, am besten wartet man zunächst den Effect einer energischen localen Therapie ab.

c. Trippersecret.

Im gonorrhoischen Eiter hat Neisser*) eine specifische Micrococcenart gefunden, die sich durch Bildung kleiner Häufchen mit relativ weiter Distanz der einzelnen Körnchen charakterisirt; sie liegen sehr oft an der Oberfläche und in dem Protoplasma der Eiterkörperchen. Dieselben Micrococcen finden sich im Secret der specifischen Conjunctival-Blenorrhoe. Sie sind mit basischen Anilinfarbstoffen in der gewöhnlichen Art leicht zu färben. Die Charakterisirung der Trippermicrococcen ist indessen noch nicht hinlänglich scharf; wir sind noch nicht im Stande, da wo sie mit andern Micrococcen vermengt vorkommen, z. B. im Vaginalsecret, die Trippermicrococcen mit Sicherheit heraus zu diagnosticiren.

d. Sperma und Prostatasecret.

Im Sperma finden sich die höchst charakteristischen, lebhaft beweglichen Spermatozoen; auch an eingetrocknetem Sperma (Samenflecken) sind sie durch Aufweichen in Kochsalzlösung meist noch sehr gut nachzuweisen. Findet man in zweifelhaften Fällen kleine glänzende Körperchen von dem Aussehen der Köpfe von Sparmatozoen und andrerseits feine Fädchen von dem Aussehen der Schwänze, aber keine zusammenhängenden Spermatozoen, so lasse man sich ja nicht verleiten, aus den gefundenen Bruchstücken

---

*) Neisser, Med. Centralbl. 1879.

einen positiven Schluss zu ziehen. Solche kleine Körperchen resp. Fädchen sind an trockenen Flecken irgend welcher Art leicht darzustellen und können jede beliebige andere Herkunft haben; nur wenn man vollständige Samenkörper mit Kopf und Schwanz in continuo nachweisen kann, ist die Natur des Samenfleckes sicher erkannt.

Vermisst man in dem Samen die Spermatozoen, so ist zu beachten, dass die temporäre von der bleibenden Azoospermie (Sterilitas masculina) unterschieden werden muss; werden rasch hinter einander mehrere Ejaculationen provocirt, so ist die Flüssigkeit zuletzt, nach Angabe mehrerer Beobachter, ganz frei von Spermatozoen. Das Hodensecret ist dann temporär erschöpft, die ejaculirte Flüssigkeit stammt nur aus den Samenblasen, Prostata etc.

Das Prostatasecret ist meist dem Sperma beigemengt, zuweilen wird es bei Druck auf die Prostata, beim Stuhlgang etc. auch für sich entleert. Es enthält ausser den geschichteten Amyloidkörpern oft eine grosse Zahl von octaëdrischen oder lanzettförmigen Crystallen, welche, ebenso wie Asthmacrystalle im Bronchialsecret, das phosphorsaure Salz einer organischen Base, der sogenannten Schreiner'schen Base, darstellen. Sie sind seit langer Zeit im Sperma als Spermacrystalle bekannt; Fürbringer*) hat nachgewiesen, dass sie von dem beigemengten Prostatasecret herstammen und dass sie die Träger des charakteristischen Samengeruchs sind. Oft sind sie schon in frisch entleertem Samen, resp. Prostatasecret nachzuweisen, in anderen Fällen erst nach längerem Stehen; stets entstehen sie in grosser Menge, wenn man zu Sperma oder Prostatasaft phosphorsaures Ammoniak zusetzt.

6. Magen- und Darminhalt.

Die microscopische Untersuchung des Erbrochenen und der Stuhlentleerungen ist schon seit langer Zeit geübt worden und ergiebt in vielen Fällen wichtige diagnostische Anhaltspunkte.

a. Speisereste

finden sich naturgemäss stets in grosser Menge. Bei Fleischnahrung finden sich quergestreifte Muskelfasern regelmässig auch im Stuhlgange (Frerichs); ebenso die Cellulosemembranen bei vegetabilischer Kost, während die Stärke unter normalen Verdauungsverhältnissen in den Faeces nicht oder nur in ganz minimalen Mengen enthalten ist; schon im Magen ist ein grosser Theil der Amylumkörner vollständig extrahirt; sie färben sich dann mit Jod nicht mehr blau, sondern nur leicht gelb.

*) Fürbringer, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 3.

Sobald Stärke in irgend erheblicher Menge in den Darmentleerungen gefunden wird, liegt ein pathologischer Zustand, meist mit Diarrhoe verbunden, vor.

Sehr resistent den Verdauungseinflüssen gegenüber verhalten sich von animalischen Nahrungsbestandtheilen besonders Sehnen, Aponeurosen, Stücke von grossen Arterien etc.; es sind nicht nur Geisteskranke oder besonders gefrässige Individuen, in deren Stuhlabgängen derartige Massen oft in grosser Menge gefunden werden, sondern oft genug ganz vernünftige Menschen; gar nicht selten verursachen sie dem Patienten und auch dem Arzte als sogenannte „Darminfarcte“ schwere Sorge, die durch die microscopische Untersuchung sofort als unbegründet erkannt wird. Auch vegetabilische unverdaute Substanzen werden oft genug entleert, Virchow hat auf das häufige Vorkommen von Apfelsinenschläuchen im Stuhlgange aufmerksam gemacht.

b. Epithelien, Schleim etc.

Die Epithel- und Drüsenzellen des Verdauungscanals werden, meist allerdings in stark verändertem Zustande, sehr häufig im Magen- und Darminhalt angetroffen, ohne dass diesem Befunde eine besondere Bedeutung zukäme.

Grössere Mengen von Schleim, der lymphoide Rundzellen, Schleimkörperchen, zu enthalten pflegt, spricht für das Vorhandensein eines Magenresp. Darmcatarrhs. Zuweilen kommen in den Darmentleerungen neben dem Schleim auch fibrinöse Massen vor, und zwar entweder in Form von Membranen oder aber in Form von baumförmig verzweigten und zu netzartigen Bildungen zusammentretenden Strängen. Dieselben sind als Producte einer pseudomembranösen Entzündung des Colon aufzufassen, welche bekanntlich zuweilen in netzartiger Anordnung auftritt. Die Entleerung dieser Massen, welche ganz erhebliche Dimensionen annehmen können, ist manchmal von starken, wehenartigen Schmerzen begleitet. Sie enthalten gewöhnlich ausser Fibrin auch Schleim, lösen sich deshalb mit Essigsäure nur theilweise auf; sonst findet man in ihnen nur Rundzellen resp. deren Reste.

c. Entozoën

kommen im Darmcanal von verschiedener Art vor, viele unter ihnen als gleichgültige Parasiten, andere dagegen von hochgefährlicher Bedeutung. Die Thiere selbst oder Theile derselben finden sich im Stuhlgang, namentlich aber sind zu ihrer microscopischen Erkennung in den Dejectionen die Eier zu verwerthen; in den Lehrbüchern der pathologischen Anatomie,

sowie in den bekannten Werken von Leukart, Braune und Davaine finden sich genaue Beschreibungen und Abbildungen derselben.

Im Jahre 1880 hat Perroncito die wichtige Entdeckung gemacht, dass die „Tunnelkrankheit“, welche die Gotthard-Arbeiter decimirte, durch das Anchylomum duodenale (resp. Anguillula intestinalis und Pseudorhabditis stercoralis) verursacht wird; die Eier dieser Parasiten werden im Stuhlgang der Kranken in grösster Menge gefunden und sind vollkommen charakteristisch. Auch bei der sogenannten „Anämie der Bergleute“ in ungarischen Bergwerken fand er dieselben Parasiten. Vielleicht ergiebt eine sorgfältige Untersuchung der Stuhlgänge auch über andere bisher räthselhafte Erkrankungen neue Aufklärung.

d. Pflanzliche Parasiten.

Im Mageninhalt, besonders in Fällen von Gastroectasie, kennt man seit langer Zeit die Sarcine; eine klinische Bedeutung kommt ihr nicht zu. Von sonstigen pflanzlichen Parasiten kommen Micrococcen, Bacillen etc. im Magen meist nur in geringer Menge vor, dagegen oft sehr reichliche Massen von Hefepilzen.

Im Darminhalt und den Stuhlentleerungen sind ebenfalls Hefepilze, besonders aber die Micrococcen und Bacillen äusserst massenhaft zu finden, grosse und kleine; von den Stäbchen werden gewisse Formen als Bacillus subtilis (Ferd. Cohn) bezeichnet; unter dem Gewirr dieser kleinen Organismen sind specifische, pathogene Formen (mit Ausnahme der Tuberkelbacillen mit ihrem charakteristischen Verhalten gegen die Färbungsmethoden) bis jetzt noch nicht zu unterscheiden.

Mehrere Formen von Organismen kommen im Darminhalt vor, die sich auf Jodzusatz bläuen; von besonderem Interesse ist das Clostridium butyricum (Prazmowsky*), welches im unteren Ileumabschnitt und im Colon (indessen nicht in den oberen Partien des Darmcanals) besonders bei Pflanzennahrung in grosser Menge gefunden wird (Nothnagel**). Ihre Grösse ist wechselnd, etwa wie die der Hefepilze, auch die Form ist verschieden; entweder sind es Stäbchen, oft mit einseitig oder beiderseitig ausgezogener Spitze, oder sie sind elliptisch oder endlich spindel- bis citronförmig gestaltet; oft sind sie in Ketten oder in Haufen zusammengelagert. Mit Jod werden sie entweder in der Totalität blau gefärbt, oder nur ihr mittlerer Theil, so dass die Pole oder die ganze Peripherie nur gelbliche Färbung erhalten. Sie sind wahrscheinlich identisch mit

*) Prazmowsky, Untersuchungen über Entwickelungsgeschichte und Formenentwicklung einiger Bacterienarten. Leipzig 1880.

**) Nothnagel, Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. 3.

Bacillus amylobacter (van Tieghem) und stellen wohl das Ferment für die im Darminhalt eintretende Buttersäuregährung dar.

Auch noch kleinere mit Jod sich bläuende Formen hat Nothnagel in den Stuhlentleerungen nachgewiesen.

Die Tuberkelbacillen sind im Darminhalt und dem entsprechend in den Faeces sehr häufig zu finden, und zwar in Fällen von tuberculösen Darmgeschwüren. Auf dem Grunde dieser Geschwüre finden sich regelmässig massenhafte Tuberkelbacillen, die dann dem Darminhalt beigemengt werden und bei Untersuchung der Faeces zur Diagnose benutzt werden können (Lichtheim und Giacomi, Fortschr. d. Med. 1883, S. 3 und 150). Es ist nur zu berücksichtigen, dass herabgeschluckte Sputa von Phthisikern ebenfalls eine Beimischung von Tuberkelbacillen zu den Faeces bewirken können; in jedem Falle ist durch den betreffenden Befund eine tuberculöse Erkrankung des Organismus sicher gestellt. Die übrigen im Darminhalt vorkommenden Bacillen entfärben sich bei der Säurebehandlung sofort; dagegen kommen gewisse Formen grosser runder „Micrococcen" in den Faeces vor, welche bei der Säurebehandlung lange Zeit, ebenso wie die Tuberkelbacillen, die Färbung beibehalten. Von Koch werden diese Körper als Sporen aufgefasst, die ausnahmsweise färbbar sind; bekanntlich sind die meisten bekannten Bacillensporen nicht färbbar. Zu diagnostischen Irrthümern können sie schon wegen ihrer kugligen Gestalt wohl niemals Veranlassung geben.

7. Exsudate. Cysteninhalt.

Die microscopische Untersuchung von Exsudatflüssigkeiten Cysteninhalt und dergleichen zu diagnostischen Zwecken wird jetzt, bei der grossen Häufigkeit der Explorativpunctionen sehr häufig vorgenommen.

So einfach die Technik derartiger Untersuchungen ist (meist handelt es sich nur um directe Betrachtung des Bodensatzes nach den oben ausgeführten Methoden, event. um Färbung des Trockenpräparats), so schwierig ist es in vielen Fällen, den diagnostischen Werth der Befunde richtig abzuschätzen.

Fett findet sich in den Exsudaten nicht selten in grösserer Menge und bedingt dann ein opalescirendes oder milchiges Verhalten derselben. Das Fett ist zuweilen wie im Chylus in kleinsten unregelmässig gestalteten mattglänzenden Körnchen und in innigster Verbindung mit Eiweisskörpern in der Flüssigkeit enthalten, so dass man ohne Weiteres das Fett nicht als solches erkennt; erst bei Zusatz von Essigsäure oder Alcalien werden die Albuminate gelöst und das Fett fliesst dann zu grösseren hell glänzenden Tröpfchen zusammen. Dieser sogenannte Hydrops chylosus

scheint stets nur bei Erguss von Chylus*) in die Bauch- resp. Brusthöhle vorzukommen, entweder in Folge von Traumen oder von Stauung des Chylus in den Mesenterialgefässen resp. im Ductus thoracicus. In andern Fällen rührt das Fett von zerfallenen Fettkörnchenkugeln her und ist von vorn herein in kleinen glänzenden Körnchen als solches charakterisirt; (Hydrops adiposus); dies kommt bei chronischer Entzündung, sowie bei Carcinosis der serösen Häute zur Beobachtung.

Es kommen übrigens auch seröse Ergüsse vor, welche lediglich durch albuminöse Körnchen eine opalescirende oder milchige Trübung zeigen.

Rothe Blutkörperchen sind in verschieden grosser Menge zu finden; oft auch in verändertem Zustande, entfärbt geschrumpft etc.

Lymphoide Zellen fehlen fast nie, nur sind sie in einfachen Transsudaten weit weniger zahlreich, als in entzündlichen Exsudaten. Oft kann man an ihnen lebhafte amoeboide Bewegungen beobachten; in vielen Fällen allerdings sind sie bereits abgestorben, oft auch mit reichlichen Fettkörnchen versehen.

Endothelzellen sind in den Ergüssen der serösen Höhlen theils einzeln, theils in zusammenhängenden Platten zu finden, ebenfalls oft fetthaltig, oft auch zu kugelförmigen Körpern umgewandelt; sie sind mit einem oder mehreren Kernen versehen, zuweilen enthalten sie auch Vacuolen.

Epithelzellen kommen im Cysteninhalt vor, von cylindrischer, polygonaler oder platter Form; sie geben oft Anhaltspuncte zur Diagnose des Ausgangsortes der Cyste. Auch Flimmerzellen finden sich zuweilen, besonders in einkammerigen Ovarialcysten etc.

Tumorelemente, die den Exsudaten beigemengt sind, fallen meist rasch zu Boden; und zwar geschieht dies schon innerhalb des Organismus, so dass sie bei hoch oben angelegten Punctionen vollständig vermisst werden können, während in den tieferen Partien die Tumorelemente in Masse vorhanden sind.

Es handelt sich meist um Carcinome; die Zellen derselben charakterisiren sich durch ihre sehr ungleiche, oft sehr erhebliche Grösse, ihre grossen Kerne und die oft ganz polymorphen Formen; Vacuolen finden sich ebenfalls sehr häufig. Indessen ist es für gewöhnlich nicht gerathen, auf Grund des Befundes von einzelnen Zellen auf Krebs zu diagnosticiren; besonders der Anfänger thut besser, die Diagnose so lange in suspenso

*) Vergl. Quincke, über fetthaltige Transsudate. Deutsch. Arch. f. Klin. Med., Bd. 16.

zu lassen, bis man die Zellen in Haufen, Ballen, zusammengelagert antrifft. Quincke*) giebt an, dass die Glycogenreaction wahrscheinlich zur Diagnose verwerthet werden kann; dieselbe tritt bei Krebszellen oft ein, während die Endothelzellen für gewöhnlich kein Glycogen zu enthalten scheinen.

Wer derartige Diagnosen stellen will, der muss vor Allem an der Leiche die verschiedenen Formen der serösen Ergüsse auf ihre geformten Bestandtheile durchuntersuchen; anderenfalls sind Irrthümer unausbleiblich. Die Formverschiedenheit der Endothellen und der Abkömmlinge derselben bei einfachen subacuten oder chronischen Entzündungen der serösen Häute ist für den Nichtkenner oft sehr überraschend und kann leicht zu einer falschen Diagnose auf Krebs Veranlassung geben.

Die Schizomyceten in den Ergüssen sind bisher noch wenig untersucht worden; möglicher Weise giebt ein näheres Studium derselben noch wichtige diagnostische Anhaltspunkte.

Bei den die acute Pneumonie begleitenden Pleuritiden und Pericarditiden findet sich sehr oft eine massenhafte Entwickelung der kapseltragenden Pneumoniemicrococcen, welche in schwierigen Fällen für die Diagnose sehr wesentliche Dienste leisten können. Durch Punction der Lungensubstanz ist von Günther und Leyden in zwei Fällen von acuter Pneumonie der Befund von Micrococcen im Alveolarexsudat des lebenden Menschen erhoben worden; Günther bemerkt in seinem Falle zuerst das Vorkommen von „farblosen Hüllen" um die Pneumoniemicrococcen.

Von thierischen Parasiten kommen hier hauptsächlich die Echinococcen in Betracht; als sichere microscopische Kriterien sind die Chitinhaken und die geschichteten Membranen zu benutzen. Oft findet man schon macroscopisch bei genauer Betrachtung des Bodensatzes die einzelnen Scolices, resp. Gruppen von solchen als weissliche Pünktchen.

---

*) Quincke, Ueber Ascites. Deutsches Archiv für klinische Medicin. Bd. 30.

VII. Untersuchung fester Leichenbestandtheile, exstirpirter Tumoren etc.

Die microscopische Untersuchung von festen Leichentheilen oder von exstipirten Tumoren etc. geschieht nach den oben dargestellten Methoden. Die isolirten Elemente werden durch Untersuchung des Saftes oder durch Schaben über die Schnittfläche, oder durch Zerzupfung, event. nach vorausgegangener Maceration, gewonnen. Stets legt man zu diesem Zwecke mit einem absolut reinen Messer eine frische Schnittfläche an; im andern Falle läuft man Gefahr, durch vielfache accidentelle Verunreinigungen der Oberfläche fortwährend gestört zu werden.

Ausserdem werden von dem frischen Präparat mittelst der krummen Scheere, des Rasirmessers, Doppelmessers oder des Gefriermicrotoms Schnitte angelegt und zunächst in Kochsalzlösung untersucht; für die Färbung frischer Schnitte benutzen wir hauptsächlich das Bismarckbraun und die Jodlösung.

Die Untersuchung unserer Objecte im frischen Zustande soll stets zuerst vorgenommen werden; sie gewährt sehr viele Vortheile. Die Substanzen zeigen die natürliche Durchsichtigkeit; wir vermögen so am besten die gefundenen histologischen Structuren auf die macroscopisch sichtbaren Differenzen zurückzuführen. Eine etwa vorhandene Verfettung kommt nur am frischen Präparat in voller Intensität zur Beobachtung.

Für alle Fälle, in denen es darauf ankommt, demonstrative, elegante Präparate, die zur Färbung geeignet sind, herzustellen, wird man stets das Gefriermicrotom verwenden. Meist gelingt es auf diese Weise, in kürzester Zeit vollständig ausreichende, tadelfreie Präparate zu gewinnen, die direct in Kochsalzlösung untersucht werden können; mit Bismarkbraun erhält man dann sehr schöne Kernfärbungen, das Präparat kommt aus dem Bismarckbraun auf kurze Zeit in Alcohol und dann in Glycerin oder in Nelkenöl resp. Canadabalsam. So kann man in eiligen Fällen binnen wenigen Minuten vom frischen Leichenorgan, sowie von exstirpirten Partien des Lebenden event. während der Operation selbst Präparate herstellen, die eine vollständige Uebersicht der Structur gewähren; unter Umständen ist das ein sehr wesentlicher Vortheil.

In manchen Fällen indessen reichen wir mit der Untersuchung des frischen Präparats nicht aus; grosse und sehr feine Schnitte von frischen Organen pflegen sich oft einzurollen und sind so eminent weich und leicht zerstörbar, dass es zuweilen trotz grösster Mühe und vielen Zeitverlustes nicht vollständig gelingt, sie intact und gut ausgebreitet auf den Objectträger zu bringen. Dann tritt die Härtung in ihre Rechte. *Die Härtung geschieht* (abgesehen von ganz speciellen Zwecken) *stets in Alcohol*; nur für das Nervensystem und zuweilen für den Bulbus ist es nothwendig, von diesem Härtungsmittel, dessen Wirkungen einfach und leicht controllirbar sind, abzugehen und die Chromsäure und deren Salze (Müller'sche Lösung) zu benutzen.

Die Alcoholhärtung geschieht am besten so, dass *kleine Stücke der Substanz in grosse Mengen absoluten Alcohol eingebracht werden*; auf diese Weise dringt der Alcohol in concentrirtem Zustande rasch in das Innere der Stücke ein und bewirkt durch sofortige Coagulation der Eiweisskörper eine prompte Fixirung der Gewebselemente. (Vgl. S. 16 ff.)

Die gehärteten Präparate werden dann stets mit dem Microtom geschnitten (vgl. S. 8 ff.); man erhält so in kurzer Zeit eine grosse Zahl von Schnitten in continuirlicher Folge, mit denen man beliebig manipuliren kann. Stets geht die Untersuchung in einfachem Wasser und Glycerin voraus; dann erst kommt das Studium der Reagentien und die Färbungen. In vielen Fällen reicht eine einmalige kurze Untersuchung aus; es kommt uns häufig nur darauf an, einen Process zu rubriciren, zu benennen; hier genügt es, ein ungefärbtes und ein mit einer beliebigen Kernfärbung tingirtes Präparat zu untersuchen. In andern Fällen dagegen finden wir unvermuthete, oft überraschend neue Structuren und Combinationen; dann ist es gerathen, eine grosse Zahl von Schnitten in Vorrath zu machen und in Alcohol aufzubewahren. Oft finden sich noch nach längerer Zeit neue Gesichtspunkte, neue Fragen, die an den aufbewahrten Schnitten durch eine besondere Behandlung, an die man früher nicht gedacht hatte, zur Beantwortung kommen.

Was nun das Vorgehen im einzelnen Falle und die Verwerthung der Befunde für diagnostische und pathologisch-wissenschaftliche Zwecke betrifft, so würde es den Rahmen unsres Büchleins überschreiten, wenn wir dies speciell abhandeln wollten. Dazu gehört ausser dem klinischen Verständniss eine genaue pathologisch-anatomische resp. -histologische Schulung und grosse Umsicht, welche nur durch eingehende Beschäftigung mit dem Gegenstande erworben werden kann. *Als Hauptgrundsatz darf hingestellt werden: Niemals einen Befund als einen pathologischen anzusehen, ohne jedesmalige directe Vergleichung mit*

dem normalen Organ, bei derselben Behandlung. Die Nichtbeachtung dieses Grundsatzes, der eigentlich ganz selbstverständlich klingt hat der Wissenschaft schon viele grobe Irrthümer gebracht und führt im practischen Falle oft zu den schwersten Missgriffen. Vielfach sind auch neue Thatsachen der Normalhistologie auf dem Wege der pathologischen Untersuchung gefunden worden; die neuen Befunde imponirten zunächst als pathologische, man versuchte sie als Ursache resp. Producte einer bestimmten Erkrankung zu deuten, bis man später zu der Erkenntniss kam, dass es sich um vollständig normale, früher übersehene Structuren handelte. Dies war z. B. mit den Fettkörnchenzellen der Fall, welche in dem Centralnervensystem älterer Föten und neugeborener Kinder gefunden werden; man hielt sie zuerst für Zeichen einer Encephalitis, bis dann späterhin durch Jastrowitz und Flechsig der Nachweis geliefert wurde, dass sie als nothwendige Zwischenglieder zu der normalen Entwickelung der weissen Substanz gehören.

Sehr häufig haben wir es bei pathologischen Befunden mit quantitativen Abweichungen von der Norm zu thun; z. B. mit Wucherung der Kerne, Trübung des Protoplasma's (welches schon in der Norm eine gewisse Trübung zeigt), Atrophie, Verkleinerung der Zellen. Es liegt auf der Hand, dass zur Feststellung derartiger gradueller Unterschiede die directe Vergleichung mit dem genau identisch behandelten normalen Organ unentbehrlich nothwendig ist.

Weiterhin finden wir sehr oft Dinge, die nicht eigentlich normal sind und doch fast keinen pathologischen Werth besitzen: subnormale Befunde. Dahin gehört vor Allem die grosse Zahl der senilen degenerativen Veränderungen, welche, so lange sie nicht in übermässiger Weise auftreten, nahezu gleichgültig sind. Man wird sie jedenfalls zu beachten haben ohne ihnen aber einen allzuhohen Werth beizumessen.

Die räumliche Ausdehnung der pathologischen Affection spielt dann für die Beurtheilung der pathologischen Dignität und klinischen Bedeutung derselben oft eine sehr grosse Rolle. Der Anfänger ist häufig geneigt, die Bedeutung seiner Befunde zu hoch anzuschlagen und beispielsweise eine Veränderung, die über ein ganzes Gesichtsfeld des Microscop sich erstreckt, für eine sehr ausgedehnte zu halten. Nur vielfältige Untersuchungen können den Anfänger in dieser Hinsicht vor fehlerhaften Schlüssen bewahren; erst allmählich lernt man durch Untersuchung verschiedener Stellen des Organs, besonders auch durch systematische Verwendung der schwachen Vergrösserung, die quantitative Ausdehnung des Processes über das Organ richtig beurtheilen. Findet man z. B. in einer Niere mehrere geschrumpfte Glomeruli, so schliesse

man daraus nicht ohne Weiteres: die Glomeruli sind geschrumpft, sondern man stelle zunächst fest, wie viele (procentisch) Glomeruli verändert, wie viele normal geblieben sind; ob die Affection eine diffuse, über das ganze Organ gleichmässig verbreitete oder eine herdförmige ist, event. ob die Herde mehr oder minder zahlreich und die dazwischen liegenden Parthien ganz normal geblieben, oder auch ihrerseits nicht ganz unverändert erscheinen. Ist nur ein kleiner Theil des Organes verändert, so kann die Affection, obwohl an der einzelnen Stelle von grosser Intensität, doch von ganz unerheblicher klinischer Bedeutung sein; man erinnere sich daran, dass sogar die plötzliche Entfernung einer ganzen Niere von einem sonst normalen Organismus ohne erhebliche Störung vertragen wird.

Andrerseits kann eine direct viel weniger auffällige Veränderung, wenn sie diffuse über das ganze Organ verbreitet ist, für die Function desselben und damit auch für den Gesammtorganismus von ganz deletären Folgen begleitet sein. Das ist z. B. der Fall bei der Glomerulonephritis; diese Affection charakterisirt sich durch Kernwucherung in den Glomerulusschlingen und Undurchgängigkeit derselben; hierdurch wird der Blutstrom in der Niere in hohem Grade geschädigt, event. sogar auf ein Minimum reducirt. Der Ungeübte kann diese hochwichtige Alteration sehr leicht vollständig übersehen, während der Kenner durch den Constrast der blutleeren, dabei grossen Glomeruli gegen die mit Blut gefüllten Capillaren der Rinde und des Marks sofort auf die Veränderung aufmerksam gemacht wird.

Was die Genese der Processe betrifft, so muss man sich der vorliegenden Schwierigkeiten und Complicationen stets bewusst bleiben; wir sehen nur das Gewordene, nicht das Werden, und ein directer Schluss von dem ersteren auf das letztere ist ohne weiteres nicht zu ziehen. Seitdem das Locomotionsvermögen der Zellen, die Auswanderung der weissen Blutkörperchen etc. bekannt geworden sind, pflegt man in dieser Beziehung sich so reservirt wie möglich zu verhalten, um so mehr, als ein unmittelbares, practisches Interesse diesen Fragen gewöhnlich nicht zukommt. Vor etwa 20 Jahren glaubte man in diesem Punkte viel weiter zu sein, als wir es heute sind; damals wurde stets schon dem Anfänger eingeschärft, z. B. bei Geschwülsten zunächst die „Genese“ derselben festzustellen. Der Sinn dieses (im eigentlichen Sinne genommen vollständig unmöglichen) Verlangens war der, dass die Uebergänge des krankhaften in das normale Gewebe studirt werden sollten, und nach dieser Richtung hin ist es auch heute noch in vielen Fällen geboten, zu untersuchen. Nur soll man sich nicht einbilden, mit der Feststellung der Uebergangsformen sofort auch die Entwickelungsgeschichte gefunden zu

haben; dabei würden die schwersten Irrthümer passiren und sind erfahrungsmässig oft genug passirt.

Ueber die Beurtheilung der Malignität von Tumoren siehe S. 109 bis 112.

Die Untersuchung auf Schizomyceten in Schnitten ist S. 44—45 behandelt worden.

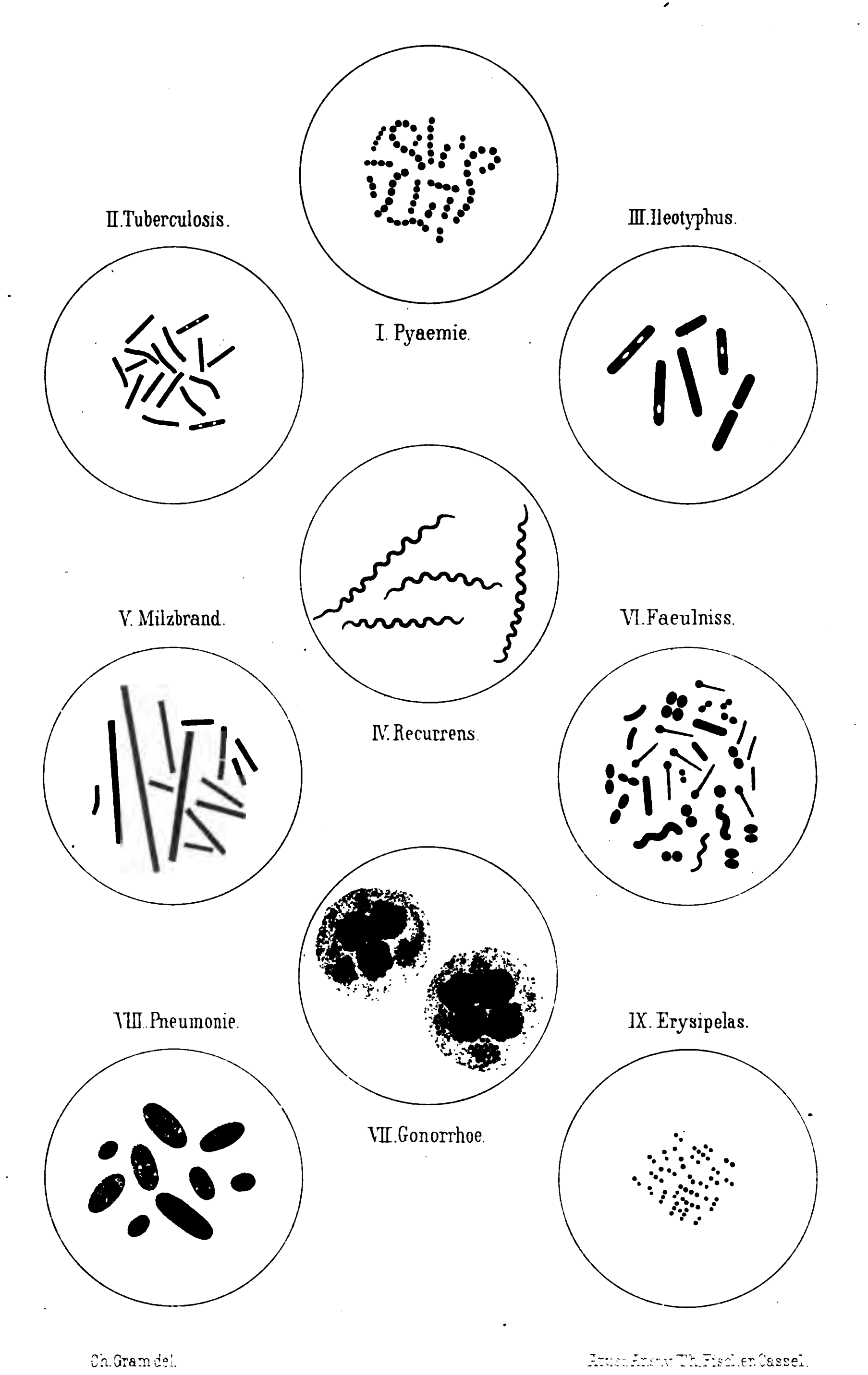
Tafelerklärung.

Die Zeichnungen sind sämmtlich bei derselben Vergrösserung, 1 : 1000, entworfen.

Färbung des Trockenpräparats mit Anilinwasser-Gentianaviolett.

Fig. I. Micrococcenketten aus Eiter.
„ II. Tuberkelbacillen aus dem Saft eines Miliartuberkels.
„ III. Typhusbacillen aus einem Peyer'schen Plaque.
„ IV. Recurrensspirillen aus dem Blut.
„ V. Milzbrandstäbchen und -Fäden im Blut.
„ VI. Verschiedene Schizomyceten aus der Mundflüssigkeit.
„ VII. Eiterzellen mit Micrococcenhaufen aus gonorrhoischem Secret.
„ VIII. Kapselmicrococcen der Pneumonie.
„ IX. Erysipelas-Micrococcen aus der Cutis. Schnittpräparat, Gram'sche Methode.

Jaender, Mikroskopische Technik.



Ch. Gram del.

LEHRBUCH

DER

ALLGEMEINEN UND SPECIELLEN

PATHOLOGISCHEN ANATOMIE

UND

PATHOGENESE.

FÜR ÄRZTE UND STUDIRENDE.

VON

DR. ERNST ZIEGLER,

PROFESSOR DER PATHOLOGISCHEN ANATOMIE UND DER ALLGEMEINEN PATHOLOGIE AN DER UNIVERSITÄT TÜBINGEN.

ANHANG.

TECHNIK DER HISTOLOGISCHEN UNTERSUCHUNG PATHOLOGISCH-ANATOMISCHER PRÄPARATE.

JENA,

VERLAG VON GUSTAV FISCHER.

1885.

TECHNIK

DER

HISTOLOGISCHEN UNTERSUCHUNG

PATHOLOGISCH-ANATOMISCHER

PRÄPARATE.

FÜR ÄRZTE UND STUDIRENDE.

VON

DR. ERNST ZIEGLER,

PROFESSOR DER PATHOLOGISCHEN ANATOMIE UND DER ALLGEMEINEN PATHOLOGIE
AN DER UNIVERSITÄT TÜBINGEN.

JENA,
VERLAG VON GUSTAV FISCHER.
1885.

I. Allgemeines über die histologische Untersuchung*) pathologisch-anatomischer Präparate.

Die histologische Untersuchung pathologisch veränderter Gewebe, Gewebsflüssigkeiten und Organe, welche lebenden Individuen oder Leichen entnommen sind, wird theils an dem frischen, theils an dem erhärteten oder in besonderer Weise vorbereiteten Präparate vorgenommen**).

Zur Untersuchung mancher Flüssigkeiten genügt es, ein kleines Tröpfchen derselben auf einen Objectträger zu übertragen und mit einem Deckgläschen bedeckt unter das Mikroskop zu bringen. Häufig ist indessen ein besonderes Verfahren nöthig.

Bei Untersuchung von Geweben kann das nöthige Untersuchungsmaterial zuweilen einfach durch **Abstreichen** oder **Abschaben** einer frischen Schnittfläche oder durch Zerzupfen eines kleinen Gewebsstückchens gewonnen werden. Die abgeschabte Masse wird auf dem Objectträger in einem Tröpfchen Brunnenwasser oder in einer Kochsalzlösung von 0,8 % vertheilt, und es ist nur darauf zu achten, dass man nicht zu viel von dem Abgeschabten nimmt. Die Zusatzflüssigkeit darf dadurch nur leicht getrübt werden. Anwendbar ist das Verfahren z. B. dann, wenn man wissen will, ob eine Leber oder eine Niere verfettete Zellen enthält, oder was für Zellen der abstreichbare Saft einer Geschwulst oder einer infiltrirten Lunge enthält.

---

*) Das Verfahren, welches bei Obduction von Leichen einzuhalten ist, ist in dem preussischen „Regulativ für das Verfahren der Gerichtsärzte bei den gerichtlichen Untersuchungen menschlicher Leichen" vom 13. Februar 1875 angegeben. Näheres über die Ausführung der Sectionen enthält „Die Sectionstechnik" von Virchow, Berlin 1876, in welcher auch das Regulativ abgedruckt ist. Empfehlenswerth ist ferner: Wiener, Methodik, Diagnostik und Technik bei gerichtsärztlichen Obductionen menschlicher Leichen, Stuttgart 1882. Schemata zur Ausführung von Obductionen sind auch dem Reichsmedicinalkalender von P. Börner f. d. J. 1885 beigegeben.

**) Bei Abfassung des Nachstehenden wurde von der Voraussetzung ausgegangen, dass derjenige, welcher sich hier Rath holen will, bereits in praktischen Kursen der Histologie eine gewisse Kenntniss in der Technik der mikroskopischen Untersuchung sich erworben hat.

Das **Zerzupfen kleiner Gewebsstücke** wird ebenfalls in Wasser oder Kochsalzlösung vorgenommen. Regel ist: kleine Gewebsstücke zum Zerzupfen zu nehmen und die Zertheilung so lange als möglich fortzusetzen. Zur Anwendung kommt das Verfahren besonders bei Untersuchung von Muskeln, von Gehirn, Rückenmark und Nerven, und von manchen Bindesubstanzgeschwülsten. Bei Nerven und Muskeln ist darauf zu achten, dass die Stücke so excidirt werden, dass sie nur kurze Abschnitte von Muskel- und Nervenfasern enthalten, da längere Abschnitte sehr schwer von einander zu lösen sind.

Um das Zerzupfen zu erleichtern, empfiehlt es sich, kleine Stücke in eine Mischung von 2 Theilen Wasser mit 1 Theil Spiritus zu legen und nach 24 Stunden oder auch erst nach einigen Tagen und nach Erneuerung der Flüssigkeit zu untersuchen.

Genauere Untersuchungen, welche einen vollen Einblick in die Veränderungen der betreffenden Gewebe gestatten, erfordern eine **Anfertigung von Schnitten** (vergl. III.)

Wer ein Mikroskop kaufen will, lasse sich Cataloge verschiedener Firmen kommen, oder wende sich, falls er nicht selbst eine Wahl zu treffen sich getraut, an ein pathologisches Institut.

Als gute deutsche Firmen sind zu nennen: E. Hartnack in Potsdam, Waisenstrasse 39, E. Leitz in Wetzlar, W. u. H. Seibert in Wetzlar und Dr. Carl Zeiss in Jena.

Für die meisten Untersuchungen genügen die Objective III oder IV und VII von Hartnack, II und VII von Leitz, I und Va von Seibert, aa oder A, AA und E von Zeiss.

Für Bacterienuntersuchungen ist ein homogenes Immersionssystem nicht zu entbehren. Am häufigsten ist $^1/_{12}$ in Gebrauch und ist auch am allseitigsten zu verwenden.

Für den gewöhnlichen Gebrauch wählt man schwache Oculare.

Die Linsen von Zeiss sind durchgehends nicht unerheblich theurer als diejenigen der anderen Firmen.

Brauchbare Stative sind von 40 Mark an erhältlich, doch ist es rathsam, nicht zu kleine Stative zu nehmen, damit die verschiedenen Nebenapparate an demselben angebracht werden können. Zum raschen Wechsel der Objective ist ein Revolverobjectivträger für 3 bis 4 Systeme sehr wünschenswerth. Zur Untersuchung von Bacterien ist ein Beleuchtungsapparat nothwendig, der an der Unterfläche des Objecttisches angebracht wird. Am zweckmässigsten ist der Abbe'sche Apparat.

II. Das Härten von Präparaten und die Entkalkung verkalkter Gewebe.

Sollen Präparate einer feineren mikroskopischen Untersuchung unterzogen werden, so ist es in den meisten Fällen geboten, dieselben zunächst zu härten und damit schnittfähig zu machen. Diese

Härtung gelingt um so vollkommener, je früher die Präparate nach dem Tode des betreffenden Individuums oder nach der Entfernung aus dem lebenden Körper in die Härtungsflüssigkeit gelangen. Besonders leicht werden die Gewebe des Nervensystemes durch Fäulniss für die Härtung und spätere Untersuchung untauglich gemacht.

Wenn danach ein Arzt Präparate behufs genauer mikroskopischer Untersuchung an ein pathologisches Institut einschicken will, so lege er dieselben zur Versendung in eine passende Härtungsflüssigkeit, oder schicke sie erst nachdem sie einige Tage in einer solchen gelegen haben. Vertrocknete und gefaulte Präparate sind nur schwer, oft auch gar nicht mehr mit Erfolg mikroskopisch zu untersuchen.

Die am häufigsten benutzte **Härtungsflüssigkeit** ist der **Alcohol** in einer Concentration von 90 bis 100 %. Kleine Präparate werden in toto eingelegt; von grösseren werden scheiben- oder würfel- oder säulenförmige Stücke abgeschnitten, deren Dicke 2 bis 3 Cm. nicht übersteigt. Die Menge des Alcoholes soll etwa fünfzehn bis 20 Mal grösser sein, als das Volumen der zu härtenden Stücke.

Ist die Menge des Alkoholes im Verhältniss zur Masse des Präparates nicht sehr bedeutend, so dass das vom Präparat abgegebene Wasser die Concentration des Alcoholes wesentlich verringert, so ist am zweiten, eventuell auch am vierten Tage der alte Alcohol ab- und neuer aufzugiessen. Werden viele Stücke zugleich gehärtet, so ist das Gefäss, in welchem sie liegen, von Zeit zu Zeit zu schütteln. Die Schnittfähigkeit ist je nach der Grösse und der Beschaffenheit des Präparates in 1 bis 6 Tagen erreicht.

Alcoholhärtung ist für die meisten Gewebe anwendbar, eine Ausnahme machen nur die Gewebe des Nervensystemes.

Sollen grössere Präparate, z. B. ganze Organe und Geschwülste für Sammlungen aufgehoben, nicht aber mikroskopisch untersucht werden, so wird das in ihnen enthaltene Blut durch Einlegen derselben in fliessendes Wasser bis zum Verlust der blutigen Färbung ausgezogen. Zur Aufbewahrung wird alsdann ein Alcohol mit einem Wassergehalt von etwa 20 bis 30 Procent benutzt, der so lange gewechselt wird, bis er sich nicht mehr trübt.

Die zweite in Gebrauch stehende Härtungsflüssigkeit ist die **Müller'sche Flüssigkeit**, eine wässerige Lösung eines Gemisches von 2 bis 2,5 % doppelt chromsaures Kali mit 1 % schwefelsaurem Natron. Eine vollkommene Härtung in dieser Flüssigkeit erfordert bei gewöhnlicher Temperatur zum mindesten zwölf Wochen. Die Flüssigkeit soll etwa das zwanzigfache des Volumens der zu härtenden Stücke betragen und ist im Allgemeinen am 2., 4. und 12. Tage zu wechseln.

Späterhin ist die Flüssigkeit dann zu erneuern, wenn sie trübe wird oder wenn sich Pilze entwickeln.

Die Präparate können in Müller'scher Flüssigkeit ein bis zwei Jahre aufbewahrt werden, doch ist es zweckmässig, der Flüssigkeit

nach Ablauf des 6. Monates ein Drittel Wasser zuzusetzen. Will man die Präparate länger aufheben, so werden sie 4 bis 6 Tage in fliessendem oder oft erneuertem Wasser ausgewässert und dann zwei Tage in eine Mischung von 1 Theil Spiritus und zwei Theile Wasser und weiterhin in Spiritus von ca. 90 % Alcoholgehalt eingelegt. Bildet sich ein Niederschlag, so wird der Spiritus nach etwa 8 Tagen gewechselt. Ein auf wenige Tage bis 2 bis 3 Wochen beschränktes Einlegen der Präparate in Müller'sche Flüssigkeit mit nachfolgender Härtung in Spiritus, wie es vielfach geübt wird, ist durchaus unzweckmässig und liefert schlechte, schwer zu färbende Präparate.

Der Vorzug der Härtung in Müller'scher Flüssigkeit gegenüber dem Alcohol beruht darin, dass die Schrumpfung der Gewebe geringer ist, dass die Zellen und die Zwischensubstanz sich besser erhalten und besser färben und dass auch das Blut sich erhält, während es im Spiritus grösstentheils zu Grunde geht. Sie ist überdies billiger als die Alcoholhärtung und hat gegenüber dieser nur den Nachtheil, dass die Härtung länger dauert. Nach Weigert gelingt es überdies, gute Härtungen in 8 bis 10 Tagen zu erzielen, wenn man die Präparate im Brütofen bei einer Temperatur von 30—40 ° C. härtet. Für Gewebe des Nervensystemes ist sie ausschliesslich anzuwenden.

Alcohol und Müller'sche Flüssigkeit reichen für die Bedürfnisse des Histologie treibenden Arztes vollkommen aus.

Unvermischte Lösungen von Chromsäure, die noch vielfach in Gebrauch sind, sollten als Härtungsflüssigkeiten ganz vermieden werden, da sie in die Gewebe nicht eindringen und da, wo sie zur Einwirkung kommen, die Gewebe so verändern, dass man vollkommen falsche Vorstellungen über den Bau derselben erhält. Lösungen von 0,1 bis 0,5 % können zur Fixation kleiner zarter Objecte benutzt werden, dürfen aber nur wenige Stunden zur Einwirkung kommen.

Für einzelne besondere Untersuchungen ist die **Osmiumsäure** in einprocentiger Lösung ein vortreffliches Härtungs- und zugleich Färbungsmittel.

Sie wird im Handel in Stückchen von einem Gramm in Glasröhrchen eingeschmolzen verkauft. Eine Lösung wird in der Weise hergestellt, dass man das Glasröhrchen in einem 100 gm destillirten Wassers enthaltenen Gefässe zerbricht. Da die Säure flüchtig ist und durch Licht reducirt wird, muss sie gut verschlossen und vor der Einwirkung des Lichtes geschützt werden. Sie wird durch organische Substanzen leicht reducirt, am raschesten durch Fette, langsamer durch Albuminate, wobei die betreffenden Zellen sich bräunen und schliesslich schwarz werden. Sie ist nur für Objecte von geringer Dicke anwendbar, da sie nicht in die Gewebe eindringt. Die Präparate werden 1—24 Stunden und mehr in Lösungen von 0,2—1,0 % eingelegt oder im geschlossenen Raume Dämpfen, welche sich aus einer geringen Menge von einprocentiger Lösung entwickeln, aus-

gesetzt. Letztere dringen besser in die Gewebe ein als die Lösung selbst.

Nach Vollendung der Fixation werden die Objecte ganz, oder in Schnitte zerlegt in Glycerin untersucht. Sie lassen sich nach sorgfältiger Auswässerung auch in Hämatoxylin färben. Objecte, welche durch Osmiumsäure gebräunt sind, dunkeln, sofort in Glycerin eingelegt, stark nach und es färbt sich auch das Glycerin schwarz. Um sie aufzuheben, legt man sie in Liquor Kali acetici 1 : 2 oder lässt sie einige Tage in Wasser oder in verdünntem Glycerin liegen und schliesst sie danach in Glycerin ein.

Ist ein Gewebe in grösserer Ausdehnung verkalkt, so muss man, um Schnitte machen zu können, die Kalksalze durch Säure in Lösung überführen. Die **Entkalkung** darf stets nur an vollkommen fertig gehärteten Präparaten vorgenommen werden, da frische oder unvollkommen gehärtete Präparate durch Säuren stark verändert werden. Kleinere Stücke, z. B. ein excidirtes Stück aus einem grossen Röhrenknochen oder ganze Knochen von Neugeborenen werden am besten in einer **concentrirten wässerigen Lösung von Pikrinsäure** entkalkt. Zweckmässig ist es, Pikrinsäure im Ueberschuss zuzusetzen, so dass das zu entkalkende Stück noch mit Pulver von Pikrinsäure bedeckt ist.

Die Tibia eines Neugeborenen, unzerschnitten eingelegt, ist in etwa drei Wochen entkalkt. Stücke von Knochen Erwachsener lassen sich schwieriger entkalken als solche von Neugeborenen oder von kleinen Kindern. Nimmt man sehr viel Flüssigkeit, was unbedingt nöthig ist, so genügt es, die Lösung zwei bis drei Mal abzugiessen und frisches Wasser aufzugiessen, eventuell auch Pikrinsäure zuzusetzen.

Grosse Knochenstücke, z. B. die Tibia eines Erwachsenen werden am besten in einer wässerigen **drei- bis fünfprocentigen Lösung von Salpetersäure** entkalkt.

Salzsäure und Chromsäure, welche noch vielfach in Gebrauch stehen, sind zur Entkalkung ungeeignet, letztere namentlich deshalb, weil die Präparate sich nach der Entkalkung nicht mehr gut färben lassen.

Nach Vollendung der Entkalkung, welche an der Weichheit und Biegsamkeit der Präparate erkannt, eventuell auch durch Einstecken einer Präparirnadel erprobt werden kann, werden die Präparate vier bis sechs Tage oder auch noch länger ausgewässert, dann in verdünnten und schliesslich in starken Spiritus gebracht. Gelingt es nicht, durch langes Wässern und durch Wechsel des Spiritus die Pikrinsäure ganz zu entfernen, so müssen späterhin die Schnitte so lange in destillirtem Wasser gewässert werden, bis sie ganz oder wenigstens nahezu ganz ihre gelbe Farbe verloren haben.

III. Anfertigung und Aufbewahrung mikroskopischer Schnittpräparate.

Zur mikroskopischen Untersuchung geeignete Schnitte lassen sich sowohl von frischen als von gehärteten Präparaten gewinnen, werden indessen vornehmlich von letzteren hergestellt, da sie weit vollkommener werden, sich besser färben und auch besser zur Anfertigung von Dauerpräparaten verwenden lassen. Man darf es indessen, wo es angeht, nicht unterlassen, Schnitte von frischen Präparaten zu machen und in Wasser oder in Kochsalzlösung mit einem Salzgehalt von 0,8 % anzusehen, da manche Eigenschaften der Gewebe bei der Härtung sich ändern.

Für manche Untersuchungen genügen **mit freier Hand geführte Schnitte,** welche mit einem scharfen auf beiden Seiten hohl geschliffenen Rasirmesser ausgeführt werden. Die Schneide des Messers muss vollkommen gerade verlaufen, darf also nicht gebaucht sein. Messer, welche an der dem Präparate beim Schneiden aufliegenden Fläche plan geschliffen sind, sind unzweckmässig.

Das zu schneidende Object wird mit dem Daumen und dem Zeigefinger der linken Hand gefasst, so dass es über die Radialseite des Zeigefingers etwas hervorragt. Es wird eine glatte Schnittfläche angelegt und von dieser möglichst dünne Scheiben abgeschnitten.

Die Klinge des Rasirmessers wird da, wo sie am Griff befestigt ist, mit dem Daumen und dem Zeigefinger der rechten Hand gefasst. Sie wird dann über die Schnittfläche unter leichter Neigung der Schneide gegen das Präparat gezogen, also nicht geschoben und auch nicht einfach aufgepresst. Bei kleinen Objecten kann man die Messerklinge auf die Radialseite des Zeigefingers auflegen und auf diese Weise eine Stütze für dieselbe gewinnen. Bei frischen Präparaten wird das Messer mit Wasser oder besser mit verdünntem Spiritus, bei gehärteten mit starkem Spiritus befeuchtet. Die Schnittfläche darf niemals trocken sein.

Der Ankauf eines Doppelmessers zur Herstellung von Schnitten frischer Objecte ist überflüssig.

Vollkommenere Schnitte erhält man durch Anwendung von **Mikrotomen,** von denen folgende besonders empfehlenswerth sind.

1) **Zerlegbare Cylindermikrotome** aus Metall mit einer Schlussplatte aus Stahl liefern: Instrumentenmacher Hermann Süss in Marburg, Optiker Ernst in Zürich, Mechaniker Himmel in Tübingen und Andere.

Brauchbar für den Arzt ist nur ein zerlegbares Mikrotom, in welchem der Durchmesser des Hohlcylinders 12 bis 18 Mm, der Durchmesser der Schlussplatte vom Rande derselben bis zur centralen Oeffnung etwa 12 Mm beträgt. Zu einem solchen Instrument, dessen Preis je nach der Grösse und der Construction 12 bis 20

Mark beträgt, lässt sich jedes doppelt hohlgeschliffene Rasirmesser mit gerade verlaufender Schneide verwerthen, während eine grössere Schlussplatte oder eine grössere Cylinderweite ein eigens dazu construirtes Messer erfordern. Wer sich ein Messer zum Gebrauch des Mikrotoms machen lässt, thut indessen gut, die Klinge desselben um 2 bis 3 Ctm. länger zu bestellen als sie bei einem gewöhnlichen Rasirmesser ist.

Das Cylindermikrotom dient nur zum Schneiden gehärteter Präparate. Vertragen dieselben, was bei den meisten der Fall ist, eine gewisse Compression, ohne dass sie sich dabei erheblich verändern, so wird von dem zu untersuchenden Object ein Stück, dessen Breitendurchmesser kleiner ist als derjenige des Lumens des Mikrotoms geschnitten. Die einzelnen Theile des Mikrotoms werden auseinander genommen, das zurechtgeschnittene Stück in eine der auseinandergelegten Hälften des Cylinders eingebettet, der Cylinder durch Auflegen der anderen Hälfte geschlossen und oben und unten die Schlussringe angeschraubt. Als Einbettungsmasse benutzt man: gehärtete Amyloidleber, gehärtete gesunde Leber, Hollundermark etc., welche man sich mit einem Rasirmesser nach Bedürfniss zurechtschneidet.

Bei der Einbettung ist darauf zu achten, dass das zu schneidende Gewebe von dem je nach Bedürfniss so oder so geschnittenen Hüllgewebe allseitig umschlossen ist und durch die Schliessung des Cylinders mässig comprimirt wird. In derselben Weise wie ausgeschnittene Gewebsstücke werden ganze Präparate, falls sie nicht zu gross sind, eingebettet.

Gewebe, welche nicht gepresst werden dürfen, wie z. B. Rückenmark- oder Hirnstücke, werden in den geschlossenen Cylinder eingeschmolzen. Es geschieht dies am besten mit weichem Paraffin sog. Solarparaffin, welches so ziemlich dieselbe Consistenz besitzt, wie ein gut gehärtetes Rückenmark.

Das Einschmelzen wird in der Weise bewerkstelligt, dass von dem erwärmten Paraffin eine ganz geringe Menge in den geschlossenen Cylinder eingegossen, bei Eintritt der Erkaltung das zu untersuchende Stück in den Cylinder eingesetzt und der frei bleibende Raum mit warmem Paraffin ausgefüllt wird. Das Präparat muss vor dem Einschmelzen abgetrocknet werden. Allfällig bei Einschmelzung sich bildende Gasblasen werden durch Berührung derselben mit einer erhitzten Scalpellspitze entfernt.

Die Anlegung von Schnitten ergibt sich aus der Construction des Mikrotoms. Durch Drehung der am Stempel angebrachten Mikrometerschraube wird das im Cylinder liegende Gewebsstück vorgeschoben. Das Messer wird beim Schneiden mit Alkohol befeuchtet, auf die Schlussplatte aufgelegt und über die Cylinderöffnung hinübergezogen.

Cylindermikrotome mit Halter zur Befestigung am Arbeitstisch sind nicht practisch. Ebenso ist von Mikrotomen mit einer gläser-

nen Verkleidung der Schlussplatte abzurathen. Nicht zerlegbare Cylindermikrotome sind für den practischen Arzt unbrauchbar.

2) Die **Schlittenmikrotome** sind die vollkommeneren Instrumente und man erhält mit ihnen feinere Schnitte als mit den Cylindermikrotomen, doch ist ihr Preis erheblich höher und schwankt zwischen 60 bis 250 Mark.

Gute Schlittenmikrotome liefern die Instrumentenmacher: H. Katsch in München, Schillerstrasse 13; R. Jung in Heidelberg (Mikrotom nach Thoma); Wichmann in Hamburg, Grosse Johannisstrasse 17; C. Reichert Wien VIII, Bennogasse No. 26; Optiker Erbe in Tübingen und Optiker Zeiss in Jena.

Der Gebrauch des Schlittenmikrotomes ergibt sich aus seiner Construction. Das zu schneidende Object wird entweder in einen Hohlcylinder eingeschlossen und aus demselben wie bei den Cylindermikrotomen vorgeschoben oder es wird durch eine Klammer festgehalten oder auf einem in die Klammer eingesetzten Korkstück festgeklebt. Bei dem letztgenannten Verfahren, welches am häufigsten zur Anwendung kommt, schneidet man sich von dem zu untersuchenden Präparat eine dicke Platte zurecht und klebt dieselbe mit Hülfe von honigdickem Gummischleim auf ein Korkstück fest. Durch ein mehrstündiges Eintauchen desselben in starken Spiritus wird der Gummi hart und es kann der Kork in die Klammer des Mikrotomes eingesetzt und das Präparat geschnitten werden.

In derselben Weise werden meist auch kleine Objecte, welche man ganz schneiden will, schnittgerecht gemacht. In anderen Fällen empfiehlt es sich mehr, die Objecte in Paraffin, dessen Härte durch Mischung von weichem und hartem Paraffin nach Bedürfniss gewählt werden kann, einzuschmelzen und so zu schneiden. Man verfertigt sich dazu kleine Papierkästchen, steckt das Präparat im Inneren derselben durch eine feine Stecknadel fest und füllt das Kästchen mit warmem flüssigem Paraffin. Nach dem Erkalten wird das Kästchen weggenommen und das Paraffinstück zum Einsetzen in die Klammer des Mikrotomes zurecht geschnitten.

Sind die Präparate, wie z. B. Lungenstücke durch die gewöhnlichen Härtungsverfahren nicht hinlänglich fest und schnittfähig zu erhalten, so legt man kleine Stücke des gehärteten Präparates einige Stunden in Wasser uud sodann 24 bis 48 Stunden in eine dickflüssige, wässerige oder zur Hälfte Glycerin haltige Lösung von Gummi arabicum und bringt sie von da für zwei Tage in starken Spiritus, in welchem das Wasser ausgezogen und der Gummi ausgefällt wird. Der Grad der Härte, welchen das Präparat dadurch erhält, hängt von der Concentration und der Menge des Alcoholes ab.

Ein weiteres gutes Verfahren, zarte kleine gehärtete Gewebsstücke schnittfähig zu machen, ist von Calberla angegeben. Das in einem Papierkästchen festgesteckte Präparat wird dabei in Hühnereiweiss eingeschlossen, welches man durch Zerreiben des gesammten Inhaltes frischer Hühnereier in einem Porzellanmörser und durch Coliren desselben durch Leinwand zum Aufguss geeignet

gemacht hat. Die Kästchen werden 2 bis 4 Tage Alkoholdämpfen von höchstens 30° Celsius ausgesetzt und dann in Alcohol nachgehärtet.

R. Jung in Heidelberg liefert einen Apparat zur Härtung in Alcoholdämpfen zu 22 Mark und gibt in seinem Catalog auch das dabei zu beobachtende Verfahren an.

Eine dritte Methode (Schiefferdecker), zarte und leicht auseinanderfallende Gewebe in sehr feine Schnitte zu zerlegen, beruht wesentlich auf einer Durchtränkung und einem Einschluss derselben in Celloidin (Bezugsquellen für Celloidin, s. Cap. IV).

Die gehärteten und durch Einlegen in absoluten Alcohol wasserfrei gemachten Präparate werden ein bis zwei Tage in eine Mischung von absolutem Alcohol und absolutem Aether ana und von da in eine Lösung von Celloidin, eine dem Collodium ähnliche Substanz, welche in einem Gemisch von Alcohol und Aether ana gelöst wird, eingelegt und in derselben je nach der Grösse zwei bis zehn Tage liegen gelassen. Hienach werden sie mit einer Schicht anhaftenden Celloidins auf ein zum Einsetzen in die Klammer des Mikrotomes geeignetes Korkstück gelegt und so lange frei stehen gelassen, bis sie durch Eintrocknung mit dem Kork verklebt sind. Danach werden sie mit dem Kork in 80 procentigem Alcohol gehärtet und bis zum Schneiden aufbewahrt.

Da das Nelkenöl das Celloidin löst und die Schnitte darin auseinanderfallen, so wird der Einschluss der Schnitte in Kanadabalsam durch Bergamottöl vorbereitet.

Eine besondere Erwähnung verdienen noch die **Gefriermikrotome**, wie sie Katsch, Jung und Andere liefern. Man hat geglaubt, sie namentlich zur Anfertigung von Schnitten von frischen Präparaten benutzen zu können und es lässt sich auch nicht leugnen, dass sie vielfach zur Erkennung der Verbreitung der pathologischen Veränderung in einem dem Körper eben entnommenen Organ dienen können. Die feinere Structur der Gewebe erleidet dagegen so bedeutende Veränderungen, dass man von der Vornahme einer feineren Untersuchung meist abstrahiren muss. Sehr brauchbar ist dagegen das Gefriermikrotom zur Anfertigung von Schnitten von Geweben, welche in Müller'scher Flüssigkeit vollkommen ausgehärtet sind, ebenso auch von Geweben, welche mit Celloidin durchtränkt sind. In Alcohol gehärtete Präparate nehmen eine Mittelstellung ein, indem sie beim Frieren bald unverändert bleiben, bald mehr oder minder verderben und zur Untersuchung untauglich gemacht werden.

Kleine Präparate können ganz gefroren werden. Von grösseren schneidet man eine etwa 2 bis 4 Millimeter dicke Scheibe ab, durchtränkt sie vollständig mit Wasser und legt sie nass auf die am Mikrotom befestigte Metallplatte. Die Kälte wird durch Zerstäubung von Aether hervorgerufen. Das Präparat wird bis es angefroren ist, mit dem Finger leicht auf die Unterlage festgedrückt.

IV. Allgemeines über die Behandlung mikroskopischer Objecte mit Reagentien und Färbemitteln.

Bezugsquellen für Reagentien, Farbstoffe, Einbettungsmassen, Kanadabalsam, Maskenlack etc.: Dr. Georg Grübler, Leipzig, Dufourstrasse No. 17; Heinrich Sohncke, Halle a.S., grosse Steinstrasse No. 2; Dr. Hermann Rohrbeck, Firma J. F. Luhme und Co. Berlin N. W., Friedrichstrasse No. 100; Dr. Robert Muencke Berlin N. W., Luisenstrasse No. 58; F. Diehl, München, Neuhauserstrasse No. 33; J. Klönne und G. Müller, Berlin S., Prinzenstrasse No. 69; König, Berlin, Dorotheenstrasse, No. 35. Von Letzterem werden vom k. Gesundheitsamte die Anilinfarben bezogen (Johne).

Kleine der mikroskopischen Untersuchung direct zugängliche **frische Objecte**, sowie **Schnitte frischer Organe**, werden meistens in Kochsalzlösung von 0,8 % oder in Wasser untersucht, doch ist es häufig sehr fördernd, wenn sie mit Reagentien oder Färbemitteln behandelt werden.

Zur deutlicheren Sichtbarmachung zarter Objecte, wie z. B. von Harncylindern, Krebszellen etc. benutzt man mit Vortheil schwache **Jodlösungen.** Um solche rasch bereiten zu können, hält man sich eine Vorrathslösung von Jodkalium 6, Wasser 100, Jod 4 und verdünnt dieselbe zum Gebrauch mit Wasser. Man verbringt dabei das Object in eine hellgelbe Jodlösung oder setzt dem in Wasser liegenden Objecte einen Tropfen Jodlösung am Rande des Deckgläschens zu und saugt das Wasser vermittelst eines Stückchens Filtrirpapier weg. Sind die Objecte klein und schwimmen sie der Strömung im Wasser folgend leicht ab, so ist es besser, das Deckgläschen abzuheben und Wasser und Jodlösung mit der Präparirnadel zu mischen.

Vortrefflich eignet sich zur Fixirung und Bräunung oder Schwärzung kleiner Objecte, wie z. B. abgeschabter Leber- oder Nierenepithelien, Infusorien, **Osmiumsäure** in einprocentiger Lösung. Der Zusatz erfolgt wie beim Jod oder man setzt das auf dem Objectträger liegende Object Osmiumdämpfen aus.

In ähnlicher Weise können auch **Chromsäurelösungen** von 0,2 bis 0,6 % zur Behandlung kleiner Objecte auf dem Objectträger benützt werden.

Essigsäure wird gewöhnlich in Lösungen von 1 bis 2 Theilen Acidum aceticum glaciale in 100 Theilen Wasser benutzt. Sie bringt Leim gebende Substanzen zur Quellung und schliesslich zur Auflösung, schlägt Mucin nieder, macht die Umgrenzung der Zellkerne deutlicher sichtbar und hellt zuweilen auch das Protoplasma der Zellen auf. Sie wird mit Vortheil zur Untersuchung von Schnitten von frischen Organen benutzt, die dadurch aufgehellt werden und deren Kerne danach deutlicher hervortreten.

Methylviolett, Methylgrün, Methylenblau, Gen-

tianaviolett in ganz schwachen wässerigen oder 0,8 % kochsalzhaltigen Lösungen eignen sich sehr gut als Zusatzflüssigkeiten bei Untersuchung zelliger Gebilde, welche dadurch mehr oder minder intensiv gefärbt werden.

Will man von frischen Organen hergestellte Schnitte färben, so ist es zweckmässig, dieselben vor der Färbung kurze Zeit in Alcohol zu legen und sie dann zu behandeln, wie Schnitte von gehärteten Organen.

Schnitte gehärteter Organe werden mit wenigen später aufgeführten Ausnahmen zunächst in destillirtes Wasser verbracht. Es ist dies namentlich dann nöthig, wenn sie in Farben, die nur in Wasser löslich sind, gefärbt werden sollen. Lagen die Gewebsstücke bis zum Schneiden in Müller'scher Flüssigkeit, so muss dieselbe durch öfters gewechseltes destillirtes Wasser möglichst vollständig aus den Schnitten ausgezogen werden. Letzteres ist erreicht, wenn das Wasser, in dem sie liegen, auch bei längerem Stehenlassen sich nicht mehr gelb färbt. Ausgewässerte Schnitte können ohne Weiteres in Glycerin untersucht werden, es wird indessen ihre Untersuchung durch Färbung sehr erleichtert und man verzichtet daher auf letztere nur selten.

Gefärbte Schnitte werden in Glycerin oder in Canadabalsam eingelegt und untersucht. Im ersteren Falle werden sie aus destillirtem Wasser in einen auf dem Objectträger liegenden Tropfen Glycerin verbracht, sorgfältig ausgebreitet und mit einem Deckgläschen zugedeckt. Will man sie aufheben, so wird um das Deckgläschen ein Rahmen von Maskenlack oder irgend einer anderen von den oben genannten Firmen gelieferten Kittmasse gezogen. Zum Einschluss in Canadabalsam werden die Schnitte aus dem Wasser 3—5 Minuten in starken Spiritus, 3—5 Minuten in Alcohol, 1—2 Minuten in Nelkenöl und von da auf den Objectträger verbracht. Der ausgebreitete Schnitt wird mit schwedischem Filtrirpapier abgetrocknet, mit einem Tropfen Canadabalsam bedeckt, das Deckgläschen aufgesetzt und der Canadabalsam, falls er dickflüssig ist, durch leichtes Erwärmen des Objecträgers über einer Spiritusflamme zur gleichmässigen Ausbreitung gebracht. Ein Einschluss des Deckgläschens ist nicht nöthig, da der Canadabalsam nach einiger Zeit hart wird.

Leicht ausführbare und die Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate wesentlich förderndе Färbungen sind folgende:

1) **Kernfärbungen.**

a. **Färbungen mit Hämatoxylinalaun.** Zehn bis zwanzig oder mehr Gramm Krystalle von Hämatoxylin werden in einem kleinen Fläschchen mit etwa zwanzig bis vierzig Cubikctm. absoluten Alcoholes übergossen, so dass eine concentrirte alcoholische Lösung entsteht, die noch überschüssige Hämatoxylinkrystalle enthält. Neben dieser als Vorrathsflüssigkeit dienenden Hämatoxylinlösung bereitet man sich eine einprocentige wässerige Lösung von Alaun und setzt derselben von der Hämatoxylinlösung so lange zu,

bis man eine helle blauviolette Flüssigkeit erhält. Diese Lösung dunkelt in wenigen Tagen sehr stark nach und kann dann zur Färbung benutzt werden. Vor der Benutzung wird die Flüssigkeit filtrirt. Am bequemsten ist es, wenn man in die Flasche mit der Färbelösung statt eines Stöpsels einen Glastrichter mit einem Filter von schwedischem Filtrirpapier einsetzt und die Hämatoxylinlösung jeweilen durch dieses Filter (dessen Papier Monate lang nicht gewechselt zu werden braucht) in eine grosse gläserne Uhrschale fliessen lässt. Nach dem Gebrauch giesst man die Flüssigkeit wieder in den in der Flasche befindlichen Trichter.

Die zu färbenden Schnitte werden in der Färbeflüssigkeit ausgebreitet, eventuell auch mit einer stumpfen Nadel etwas hin- und hergezogen. Je nach der Stärke der Lösung und nach der Färbbarkeit des Präparates ist die Färbung in zwanzig Secunden bis zwanzig Minuten vollendet.

Um den Effect der Färbung zu beobachten, wird einer der eingelegten Schnitte von Zeit zu Zeit in einer Schale mit destillirtem Wasser abgespült. Sowie eine hinlängliche blauviolette Färbung eingetreten ist, werden alle Schnitte in eine reichliche Menge destillirten Wassers gebracht. Weiterhin wird das Wasser so lange gewechselt, bis keine Farbe mehr ausgezogen wird. Ist dies erreicht, so werden die Schnitte mindestens sechs Stunden (am besten über Nacht) im Wasser gelassen. Durch das Auswässern wird die Farbe fixirt und es kann danach der Schnitt nicht nur in Kanadabalsam, sondern auch in Glycerin aufgehoben werden.

War die Hämatoxylinlösung frisch zubereitet, so dunkeln die Schnitte sehr stark nach. Bei alter Lösung ist das Nachdunkeln gering, die Schnitte erhalten nur einen mehr blauen statt violetten Ton. Sind die Schnitte überfärbt, so kann ein Theil der Farbe durch Einlegen der Schnitte in wässerige Alaunlösung wieder entfernt werden.

Hämatoxylinfärbung erhält sich Jahre lang unverändert, nur ist darauf zu achten, dass keine Säure mit den Schnitten in Berührung kommt.

b) Der **Alauncarmin** ist ebenfalls eine exquisite kernfärbende Farbe und findet danach eine ähnliche Anwendung wie das Hämatoxylin. Die Färbeflüssigkeit wird dadurch hergestellt, dass Carminpulver (etwa 1 Procent) in fünfprocentiger wässeriger Alaunlösung eine halbe Stunde oder länger gekocht und die Flüssigkeit filtrirt wird.

Die Farbe hat gegenüber Hämatoxylin den Vortheil, dass die Schnitte, auch wenn sie längere Zeit in der Färbeflüssigkeit liegen bleiben, sich nicht überfärben, dass das Auswässern der Schnitte nicht so lange Zeit erfordert und dass Säuren die Farbe nicht verändern. In dunkelroth gefärbten Lösungen sind die Schnitte von 5 bis 10 Minuten meist genügend gefärbt. Das Auswässern der Schnitte kann man nach 10 Minuten beenden, doch ist es besser,

falls man die Schnitte in Glycerin einlegen will, dies etwa eine Stunde fortzusetzen.

Carmin kann auch in einer kalt gesättigten wässerigen Lösung in Lithion carbonicum gelöst werden. 2,5 Gramm in 100 Gramm Lithionlösung gelöst färben frische und gehärtete Präparate in wenigen Secunden diffus. Um Kernfärbung zu erhalten, werden die Schnitte sofort in salzsauren Alcohol (1 Theil Salzsäure auf 100 Theile 70% Alcohol) eingelegt, von da in Wasser verbracht und entweder in Glycerin oder nach Behandlung mit absolutem Alcohol und Nelkenöl in Canadabalsam eingelegt (Orth).

c) Eine dritte empfehlenswerthe und leicht zu benutzende kernfärbende Farbe ist das **Gentianaviolett.** In einer concentrirten wässerigen Lösung färben sich Schnitte in wenigen Minuten sehr intensiv. Die überschüssige Farbe wird in Wasser und in absolutem Alcohol, der so lange gewechselt wird, bis er sich nicht mehr bläut, ausgezogen und die Präparate in Canadabalsam oder in Glycerin eingelegt. In derselben Weise wird mit concentrirter wässeriger Lösung von Methylenblau gefärbt, doch ist es gut, die Schnitte länger in der Farbe liegen zu lassen.

Ueber die Anwendung des Gentianaviolett, des Fuchsin, des Vesuvin und des Methylenblau, Anilinbraun etc. bei Untersuchung der Bacterien siehe Cap. VII.

2) **Diffuse Färbungen.** Unter den Farben, welche die Grundsubstanz der Gewebe färben, sind namentlich das neutrale carminsaure Ammoniak und das wasserlösliche Eosin zu empfehlen. Beide sind überdies werthvolle Färbemittel bei Untersuchungen des Nervensystemes.

a) Diffus färbendes **neutrales carminsaures Ammoniak** erhält man in der Weise, dass man etwa einen Kaffelöffel voll Carminpulver mit überschüssigem Ammoniak zerreibt und den rothen Brei in einen Kolben mit etwa 1/2 bis 3/4 Liter Wasser verbringt und so lange kocht, bis das überschüssige Ammoniak verflüchtigt ist. Die dunkelrothe Flüssigkeit lässt man offen stehen. Hat dieselbe einige Wochen so gestanden und einen hellrothen Bodensatz gebildet, so wird sie abfiltrirt und ist dann meistens zum Gebrauch fertig. Fallen die Färbungen nicht nach Wunsch aus, so lässt man die Lösung noch einige Zeit in einer verkorkten Flasche stehen. Jahre alte Carminflüssigkeiten pflegen die besten Färbungen zu geben.

Bei Färbung von Schnitten stellt man sich durch Eintröpfeln der concentrirten Lösung in eine Schale mit destillirtem Wasser eine hellrothe Lösung her und lässt die Schnitte ca. 24 Stunden in derselben liegen. Dabei ist darauf zu achten, dass die Schnitte nirgends aufeinander liegen, da in diesem Falle die Färbung unvollkommen wird. Dieselbe Flüssigkeit kann, wenn sie filtrirt wird, mehrfach benutzt werden und wird danach in eine Flasche zurückgegossen. Nach der Färbung werden die Schnitte gewässert und können sowohl in Glycerin als in Canadabalsam eingelegt werden.

b) Zu Färbungen mit **Eosin** bedient man sich einer ganz schwachen, hellrothen, opalescirenden, wässerigen Lösung von etwa 1:1000 bis 1500. Die Schnitte werden, sobald sie die gewünschte Färbung erlangt haben, in Wasser abgespült. Will man sie in Canadabalsam einlegen, so ist darauf Rücksicht zu nehmen, dass der Alcohol das Eosin auszieht. Sie dürfen also nicht zu lange im Alcohol liegen bleiben.

3) **Doppelfärbung von Schnitten.** Doppelfärbungen mit Hämatoxylin und Carmin werden stets in der Weise vorgenommen, dass man zuerst mit Hämatoxylin und dann mit neutralem Carmin färbt. Zwischen beiden Färbungen müssen die Schnitte mindestens 6 Stunden ausgewässert sein. Sie finden namentlich bei Untersuchungen des Nervensystemes und der Knochen Anwendung.

Bei Doppelfärbungen mit Alauncarmin und Eosin wird stets die Carminfärbung zuerst vorgenommen und die Schnitte erst nach gründlichem Auswaschen in Eosinlösung gelegt.

4) **Färbung von Gewebsstücken.** Bei manchen zarten Geweben, wie z. B. bei der Retina ist es oft wünschenswerth, nicht erst die Schnitte, sondern schon das noch unzerlegte Präparat zu färben. Flüssigkeiten, welche sich dazu eignen, sind die Beale'sche Carminlösung und eine Lösung von Bismarkbraun in verdünntem Spiritus.

Die **Beale'sche Carminlösung** wird nach folgendem Recept hergestellt:

Carmin	0,6
Liq. Ammon. caust.	3,75
Glycerin	60,0
Aq. dest.	60,0
Alcohol	15,0

Der Carmin wird zuerst in einem Reagirröhrchen mit dem Ammoniak einige Minuten gekocht und nach dem Erkalten mit den übrigen Ingredienzien zusammengebracht. Wird die Flüssigkeit nach langem Stehen trübe, so setzt man einige Tropfen Ammoniak zu. In diese Flüssigkeit eingelegte Stücke färben sich je nach der Dicke in 2 bis 8 Tagen. Nach dem Durchfärben werden sie abgespült, in Alcohol verbracht und geschnitten. Die Schnitte können ohne Weiteres eingelegt werden. Bei Einschluss in Canadabalsam dürfen sie natürlich nicht mit Wasser in Berührung gebracht werden.

Von **Bismarkbraun** wird zum Durchfärben eine concentrirte spirituöse Lösung mit einem Alcoholgehalt von ungefähr 40 % hergestellt. Das nach wenigen Tagen durchgefärbte Präparat wird in absoluten Alcohol gelegt und ebenso werden auch die Schnitte bis zum Einschluss in Canadabalsam in absoluten Alcohol verbracht.

Literatur: FREY, *Das Mikroskop und die mikroskopische Technik, Leipzig 1881 und Grundzüge der Histologie, Leipzig 1879;* DIPPEL, *Grundzüge der allgemeinen Mikroskopie, Braunschweig 1885;*

Fol, *Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Untersuchung, Leipzig 1884;* Friedländer, *Mikroskopische Technik, Berlin 1884;* Bizzozero, *Manuel de microscopie clinique, Bruxelles 1883;* Gierke, *Färberei zu mikroskopischen Zwecken, Zeitschr. für wissensch. Mikroskopie I 1884.*

V. Untersuchung degenerativer Veränderungen.

1) **Nekrose.** Nekrotische Herde lassen sich, falls sie mit blossem Auge erkennbar und ihre Bestandtheile isolirbar sind, meist mit Vortheil frisch untersuchen, indem man abgeschabte Massen in Wasser oder Kochsalzlösung zertheilt oder herausgeschnittene Stücke zerzupft. Es ist dies z. B. anwendbar bei nekrotischen Herden in Gehirn, Niere, Leber, Herz, Muskeln, Lunge etc.

Nekrose einzelner Zellen oder kleiner Zellcomplexe muss an Schnitten untersucht werden und es eignen sich dazu sowohl in Alcohol als in Müller'scher Flüssigkeit gehärtete Präparate. Färbung mit Hämatoxylin oder Alauncarmin oder Gentianaviolett leisten ausgezeichnete Dienste, da nekrotische Herde sich schlechter färben als gesundes Gewebe und oft durch kernfärbende Farben gar nicht mehr gefärbt werden. Geronnene nekrotische Massen lassen sich mit Carmin und Eosin diffus färben.

2) **Einfache Atrophie und Pigmentatrophie** leicht isolirbarer Gewebsbestandtheile, wie z. B. von Muskeln und Nerven können an Zerzupfungspräparaten untersucht werden. Bessern Einblick erhält man durch Untersuchung gefärbter Schnitte von gehärteten Organen.

3) **Trübe Schwellung und hydropische Degeneration** von Zellen untersucht man am besten frisch an isolirten Zellen, welche durch Abschaben oder durch Zerzupfen aus dem Zusammenhang herausgelöst und in Wasser oder Kochsalzlösung zertheilt werden. Setzt man dem Untersuchungsobject verdünnte Essigsäure zu, so verschwindet die körnige Trübung der Zellen.

4) **Fettige Degeneration** von Zellen und Zellderivaten wird wie die trübe Schwellung am zweckmässigsten an frischen Präparaten untersucht, und zwar entweder an Isolationspräparaten oder an Schnitten. In angesäuertem Wasser werden Fetttröpfchen nicht gelöst. Zertheilt man verfettete Zellen in einer einprocentigen Lösung von Osmiumsäure (Bezugsquellen s. Cap. IV), so färben sich die Fetttropfen schwarz. Mit Osmiumsäure behandelte Schnitte frischer verfetteter Organe geben gute Bilder.

Bei Härtung in Alcohol wird das Fett aufgelöst. Bei Härtung in Müller'scher Flüssigkeit bleiben die Fetttropfen zum Theil erhalten, fliessen aber vielfach zu grösseren Tropfen zusammen. Gute und zum Aufbewahren geeignete Präparate erhält man durch Einlegen kleiner scheibenförmiger Gewebsstücke in Müller'sche Flüssigkeit, welcher etwa ein Viertel ihres Volumens einprocentige Ueber-

osmiumsäure zugesetzt ist. Nach 8 bis 14 Tagen wird das Präparat mit dem Gefriermikrotom geschnitten, die Schnitte sehr gut ausgewässert, einige Zeit in einer Schale mit Glycerin aufgehoben und dann in Glycerin eingelegt. Zur Färbung mit Ueberosmiumsäure eignen sich auch Schnitte von Präparaten, die nur kurze Zeit in Müller'scher Flüssigkeit gelegen haben. Die gefärbten Schnitte dürfen erst nach etwa 8 Tagen in Glycerin eingelegt werden, da sich sonst das Glycerin schwärzt. Sie werden in dieser Zeit in einer Schale mit Glycerin aufgehoben. Wenn man die mit Ueberosmiumsäure behandelten Schnitte nur ganz kurze Zeit in Alcohol liegen lässt, die durch Nelkenöl durchsichtig gemachten, auf den Objectträger gelegten Schnitte durch Aufpressen von feinem Filtrirpapier gut austrocknet und danach in harten, durch Erhitzen momentan flüssig gemachten Canadabalsam einschliesst, so erhält man ebenfalls brauchbare Dauerpräparate.

5) **Schleimig entartete Gewebe** werden am besten frisch untersucht. Essigsäure und Alcohol bewirken Gerinnung. Es ist danach zur Härtung Müller'sche Flüssigkeit zu nehmen und danach mit dem Gefriermikrotom zu schneiden.

6) Gewebe mit **Kolloid** können sowohl in Alcohol als in Müller'scher Flüssigkeit gehärtet werden.

7) Die **Amyloidentartung** wird am besten an Schnitten frischer oder mit Alcohol oder Müller'scher Flüssigkeit gehärteter Organe untersucht. Die Schnitte werden entweder in der in Cap. IV angegebenen Weise mit kernfärbenden Farben, event. auch noch mit Eosin oder Carmin gefärbt oder mit Jod oder Methylviolett behandelt.

Legt man Schnitte in eine hell weingelbe Jodlösung (s. (pag. 10), so nehmen die amyloiden Theile in kurzer Zeit eine dunkelbraune Färbung an, welche unter dem Mikroskope weinroth erscheint. Einlegen der mit Jod behandelten Schnitte in eine wässerige einprocentige Schwefelsäurelösung bewirkt entweder eine gesättigtere Braunrothfärbung oder eine schmutzig violette oder eine blaue oder grüne Färbung. Zuweilen nimmt Amyloidsubstanz schon bei blosser Jodbehandlung eine der letztgenannten Färbungen an.

Färbt man Schnitte amyloid entarteter Organe mit einer wässerigen Lösung von Methylviolett, legt dieselben danach in (durch Essigsäure) angesäuertes Wasser, so wird die Amyloidsubstanz rubinroth, das übrige Gewebe blauviolett gefärbt. Die Schnitte werden in Glycerin untersucht.

Corpora amylacea färben sich mit Jod intensiv weinroth bis schwarzbraun.

Amylumkörner färben sich mit schwacher Jodlösung ultramarinblau und sind dadurch sehr leicht nachzuweisen.

Cellulose färbt sich mit Jod gelb. Lässt man zu einem durch Jod gelb gefärbten, auf dem Objectträger ohne Zusatz ausgebreiteten und mit einem Deckgläschen bedeckten Pflanzenschnitt vom Rande des Deckgläschens aus reine Schwefelsäure zufliessen,

so färbt sich die Cellulose da, wo die Schwefelsäure frisch zur Einwirkung kommt, kornblumenblau.

8) **Glycogen** wird in der Weise nachgewiesen, dass man Schnitte möglichst frisch in absolutem Alcohol gehärteter Organe in eine schwache Jodlösung legt, in welcher das Glycogen sich weinroth färbt. Da in wässeriger Lösung das Glycogen ausgezogen wird, so benutzt man zur Färbung eine dickflüssige Gummilösung (Ehrlich), welche ein Procent Lugol'scher Lösung enthält und bewahrt die Schnitte auch in dieser Lösung auf.

9) **Hyalin entartetes Bindegewebe** untersucht man zweckmässig an Schnitten gehärteter Gewebe, welche doppelt gefärbt sind.

10) Mit **Kalksalzen imprägnirte Gewebe** untersucht man, sofern sie noch schneidbar sind, an ungefärbten oder gefärbten Schnitten frischer oder gehärteter Organe. In Wasser und Glycerin sind die Kalkkörner leichter zu sehen als in Schnitten, die in Canadabalsam eingelegt sind. Durch verdünnte Säure, z. B. Salzsäure, lässt sich die Entkalkung unter dem Mikroskope vornehmen.

11) **Pigmentbildung** in haemorrhagischen Zerfallsherden mit Pigmentkörnchenzellen und Hämatoidinkrystallen untersucht man frisch an Zerzupfungs- und Zertheilungspräparaten. Feste pigmenthaltige Gewebe werden nach Erhärtung geschnitten und ungefärbt oder gefärbt untersucht.

VI. Untersuchung wuchernder und entzündeter Gewebe.

Wuchernde und entzündete Gewebe können im Allgemeinen sowohl in Alcohol, als auch in Müller'scher Flüssigkeit gehärtet werden und es gilt dies sowohl für hyperplastische Wucherungen, als auch für Geschwülste. Kommt es darauf an, Schrumpfungen der Gewebe möglichst zu vermeiden und das Blut in den Gefässen zu erhalten, so ist Müller'sche Flüssigkeit vorzuziehen. Zarte, zellreiche Gewebe, weiche Sarcome, myxomatöse Geschwülste, Gliome, Enchondrome etc. härten sich in ihr ebenfalls weit schöner, als in Alcohol.

Die Schnitte sind in erster Linie mit kernfärbenden Farben, welche die verschiedenen Zellformen in verschiedener Intensität färben, zu behandeln. Am dunkelsten färben sich die farblosen Blutkörperchen.

Will man genauere Untersuchung über die in wuchernden Geweben, z. B. in Geschwülsten enthaltenen **Zell- und Kernstructuren** und **Kerntheilungsfiguren** vornehmen, so müssen die Zellen, womöglich noch lebend in indifferenten Lösungen untersucht oder durch Reagentien fixirt und durch Farbe gefärbt werden. Von einer ganz frischen Schnittfläche abgestrichener Gewebssaft kann zunächst in Kochsalzlösung von 0,8 % untersucht werden. Von Arnold wird eine schwache Lösung von Methylgrün in einer Kochsalzlösung

von 0,6 $\frac{0}{0}$ als ganz besonders geeignet zur Untersuchung von Zellen und deren Kernen empfohlen. Für manche Zwecke lassen sich mit Vortheil einprocentige Osmiumsäurelösungen, sowie Chromsäurelösungen von 0,2 bis 0,6 $\frac{0}{0}$, sowie die zur Fixirung der Zellkerne in Gewebsstücken empfohlenen Säuregemische anwenden.

Zur **Fixation von Kerntheilungsfiguren innerhalb von Geweben** werden kleine dünne nicht über 0,6 Ctm. dicke Gewebsstücke noch lebend in Fixationsflüssigkeit gebracht. Für manche Präparate genügen absoluter Alcohol, sowie Chromsäurelösungen von 0,2—0,6 $\frac{0}{0}$. Besser noch sind verschiedene von FLEMMING empfohlene Säuregemische, so z. B. eine wässerige Lösung von Chromsäure 0,25 $\frac{0}{0}$, Osmiumsäure 0,1 $\frac{0}{0}$, Eisessig 0,1 $\frac{0}{0}$; ferner ein wässeriges Gemisch von 15 Maasstheilen Chromsäurelösung von 1 $\frac{0}{0}$, 4 Theilen Osmiumsäurelösung von 2 $\frac{0}{0}$, ein Maasstheil oder weniger Eisessig. FOL empfiehlt zur Fixation von Kerntheilungsfiguren ganz besonders eine Mischung von 2 Maasstheilen Osmiumsäurelösung von 1 $\frac{0}{0}$, 25 Theilen Chromsäurelösung von 1 $\frac{0}{0}$, 5 Theilen von Essigsäurelösung von 2 $\frac{0}{0}$ und 68 Theilen Wasser. Eine Mischung von 25 Theilen Chromsäurelösung von 1 $\frac{0}{0}$, 50 Theilen Essigsäurelösung von 2 $\frac{0}{0}$ und 25 Theilen Wasser eignet sich nach ihm besonders zur Darstellung der Structur des Zellprotoplasma.

Bei allen diesen Fixationen muss man reichliche Flüssigkeit nehmen und dieselbe, wenn sie trübe wird, wechseln. Zur Fixation sind je nach der Grösse des Objectes eine Viertelstunde bis zu einem Tage und mehr nothwendig. In Säuregemisch fixirte Präparate können in Alcohol nachgehärtet oder sofort nach der Fixation gefroren geschnitten werden. Zur Färbung der gut ausgewässerten Schnitte eignen sich Hämatoxylin, Alauncarmin, Gentianaviolett etc. FLEMMING empfiehlt bei den durch ein stärkeres Säuregemisch fixirten Kernfiguren eine Färbung in starker, Alcohol haltiger Safraninlösung während eines Tages. Die Schnitte werden von da in absolutem Alcohol, der 0,5 $\frac{0}{0}$ Salzsäure enthält, abgespült und theilweise entfärbt und von da in reinen Alcohol, sodann in Nelkenöl und Canadabalsam verbracht.

VII. Untersuchung von Bacterien.

A. Die mikroskopische Untersuchung der Bacterien in Flüssigkeiten und in Geweben.

1. **Bacterien in einer Flüssigkeit**, wie z. B. in Blut oder Eiter werden nach folgenden Methoden untersucht:

a. Auf einen sorgfältig gereinigten Objectträger wird ein gereinigtes Deckgläschen in der Mitte aufgelegt und durch eine Präparirnadel mit der linken Hand fest aufgepresst. Mit der rechten Hand wird der Docht eines wie eine Schreibfeder in der Hand gehaltenen Wachskerzchens über einer Flamme so lange erhitzt, bis

flüssiges Wachs in denselben einfliesst. Durch Aufsetzen des vom heissen Wachs durchtränkten Dochtes auf die Ecken des fest aufgedrückten Deckgläschens erhält man eine Befestigung desselben in einer solchen Lage, dass zwischen ihm und dem Objectträger ein dünner Capillarraum besteht. Ist der Objectträger auf diese Weise vorbereitet, so wird ein Tröpfchen der zu untersuchenden Flüssigkeit an den Rand des Deckgläschens gesetzt. Sowie dasselbe in den Capillarraum eingeströmt ist, wird der nach unten gehaltene Docht des Wachskerzchens abermals erhitzt, die Ränder des Deckgläschens damit wie mit einem Pinsel bestrichen, der Capillarraum allseitig abgeschlossen und die in demselben enthaltene Flüssigkeit dadurch vor rascher Verdunstung geschützt.

Das Verfahren ist besonders geeignet, wenn man Bacterien, z. B. Recurrensspirillen oder Milzbrandbacillen lebend untersuchen will und die mikroskopische Untersuchung nicht gut an demselben Orte, wo der Patient sich befindet, vorgenommen werden kann. Versieht man in der beschriebenen Weise vorbereitete Objectträger mit Schutzleisten, so kann man dieselben aufeinandergelegt in der Brieftasche bei sich tragen und die aufgefangene Flüssigkeit später auf seinem Laboratorium in Muse untersuchen. Ist der Verschluss gut ausgeführt, so hält sich die Flüssigkeit einige Tage.

b) Eine zweite Methode, Bacterien in Flüssigkeiten zu untersuchen, besteht darin, dass man die Flüssigkeit auf einem Deckgläschen oder einem Objectträger eintrocknet und danach färbt. Als Farben benutzt man Anilinfarben und zwar am häufigsten: Gentianaviolett 2,25 Gramm in 100 Gramm Wasser, Diamantfuchsin 2 Gramm in 15 Gramm Alcohol und 85 Gramm Wasser, Methylenblau in derselben Lösung wie Fuchsin. Die Flüssigkeiten werden vor dem Gebrauche filtrirt.

Ein Tröpfchen der zu untersuchenden Flüssigkeit wird auf einem gereinigten Deckgläschen mit einer ausgeglühten Platinnadel ausgebreitet und so an der Luft zum Eintrocknen gebracht. Nach vollständigem Trocknen wird das Deckgläschen mit einer Pincette so gefasst, dass die angetrocknete Flüssigkeit sich auf der oberen Fläche befindet. In dieser Lage wird das Deckgläschen drei Mal langsam durch eine Spiritus- oder nicht russende Gasflamme gezogen. Danach wird ein Tropfen der Farbstofflösung mit einem Glasstab auf die belegte Seite des Deckgläschens gebracht, auf derselben ausgebreitet und nach einigen Minuten wieder mit destillirtem Wasser abgespült. Das Deckgläschen wird danach an der unbedeckten Fläche mit Filtrirpapier getrocknet, mit einem Tröpfchen Wasser an der belegten Seite auf den Objectträger verbracht und mit einer starken Objectivlinse und schwachem Oculare ohne Einsetzung einer Blende untersucht. Wenn möglich, ist eine Oelimmersion und ein ABBÉ'scher Beleuchtungsapparat zu benutzen. Will man das Präparat aufbewahren, hebt man das Deckgläschen vom Objectträger ab, nimmt das Wasser mit Filtrirpapier weg, lässt

das Präparat vollkommen trocknen und legt es ohne Weiteres in Canadabalsam ein, der in Terpentinöl oder Xylol gelöst ist.

Mit diesem Verfahren, das nach Bedürfniss modificirt werden kann, können die meisten Bacterien in Flüssigkeiten gefärbt werden.

Ist eine Flüssigkeit sehr reich an Bacterien oder an zelligen Bestandtheilen, so wird eine ganz geringe Menge derselben in einem Tröpfchen Wasser auf dem Deckgläschen vertheilt und so aufgetrocknet. In ähnlicher Weise wird auch abgestrichener Gewebssaft vertheilt. Enthält eine aufgetrocknete Flüssigkeit Fett, so wird dasselbe vor dem Färben durch Alcohol und Aether ausgezogen und danach mit angesäuertem Wasser abgespült.

Wie auf dem Deckgläschen so kann die Eintrocknungsprocedur auch auf dem Objectträger vorgenommen werden. Zuweilen ist es von Vortheil, den reinen Objectträger über der Flamme so weit zu erwärmen, bis an dessen Unterfläche alle Wasserniederschläge, die sich zuerst bilden, verschwunden sind, und dann die zu untersuchende Flüssigkeit mit einem Scalpell aufzustreichen. Wird in der richtigen Weise verfahren, so trocknet die Flüssigkeit sofort ein und es bleibt dabei auch die Form der in derselben enthaltenen Zellen, z. B. der Blutkörperchen, gut erhalten.

Für einzelne Färbungen ist es von Vortheil, die Farbe in Anilinwasser aufzulösen. Letzteres wird in der Weise bereitet, dass man 5 Cctm. Anilinöl mit 100 Cctm. pilzfreiem destillirtem Wasser tüchtig schüttelt und dann filtrirt. Bedarf man nur wenig Farblösung, so bedeckt man den Grund eines Reagirröhrchens mit Anilinöl, das man in einer Flasche in Vorrath hält, füllt das Röhrchen zu zwei Drittel mit destillirtem Wasser, schüttelt und filtrirt in ein anderes Reagirröhrchen oder in eine Uhrschale. Die Farben (Gentianaviolett, Fuchsin, Methylviolett) werden aus einer concentrirten alcoholischen Lösung zugesetzt und zwar so lange, bis die Lösung gesättigt ist, was sich durch ein deutliches Opalesciren der Flüssigkeit anzeigt. In 10 Cbctm. Anilinwasser lösen sich ungefähr 15 Tropfen einer alcoholischen Gentianaviolettlösung. Da die in Anilinwasser gelösten Farben nach einiger Zeit verderben, so ist es zu empfehlen, die Farbelösung jeweilen frisch zu bereiten.

Sind die Deckglaspräparate zu stark gefärbt, so können sie durch Alcohol, Säuren und Jodlösungen in derselben Weise entfärbt werden, wie es unten für die Entfärbung der Schnitte beschrieben ist. Doppelfärbungen, durch welche die Bacterien in anderer Farbe sich färben, als die im Präparate vorhandenen Zellen, werden in derselben Weise vorgenommen wie bei Schnitten. Bei Tuberkelbacillen findet meist ein besonderes Verfahren Anwendung, welches auf pag. 22 u. 23 mitgetheilt ist.

Von Farben, welche zur Färbung von Bacterien noch häufig gebraucht werden, ist noch zu nennen: Anilinbraun, das man in einer Mischung von Wasser und Glycerin zu gleichen Theilen bis zur Sättigung löst. Nach der Färbung, die in wenigen Minuten beendet ist, werden die Präparate mit Glycerin abgespült und in

Glycerin aufgehoben. Die Farbe ist vornehmlich geeignet zur Herstellung von Präparaten, die photographirt werden können.

2. Sollen **Bacterien innerhalb von Geweben** nachgewiesen werden, so legt man kleine Stücke des zu untersuchenden Organes möglichst frisch in absoluten Alcohol. In Müller'scher Flüssigkeit gehärtete Organe eignen sich zwar ebenfalls für den Nachweis von Mikroorganismen in Schnitten, allein es ist dabei jeweilen nicht ausgeschlossen, dass ein Theil der Bacterien erst nach dem Tode des betreffenden Gewebes zur Entwickelung gekommen ist.

Sind die Präparate in Alcohol hinlänglich erhärtet, so werden von denselben in der gewohnten Weise Schnitte angefertigt. Für die meisten Spaltpilze, für alle Mikrokokken und für Milzbrandbacillen eignet sich ganz besonders Gentianaviolett, von dem die oben (pag. 19) angegebene Lösung benutzt wird. Andere für diese oder jene pathogene Spaltpilzform besonders geeignete Farbstoffe sind in der Uebersicht pag. 22 bis pag. 24 angegeben. Da Nelkenöl und Chloroform die basischen Anilinfarben extrahiren, so benutzt man zur Aufhellung der Schnitte besser Terpentinöl oder Bergamottöl, zum Einschluss derselben Canadabalsam, der in Terpentin oder in Xylol gelöst ist. Nelkenöl kann nur dann benutzt werden, wenn man die Schnitte vor dem Einschluss in Balsam gut trocknet.

In vielen Fällen genügt es, die in Gentianaviolett gefärbten Schnitte in absolutem Alcohol oder erst in angesäuertem Wasser und dann in Alcohol auszuziehen und in Terpentinöl oder in Canadabalsam zu untersuchen. Da indessen bei diesem Verfahren neben den Schistomyceten auch die Kerne der Gewebszellen gefärbt sind, so ist für viele Fälle ein von Gram angegebenes Verfahren vorzuziehen, durch welches die Gewebszellen vollständig entfärbt werden, während die Spaltpilze ihre intensive Färbung beibehalten.

Das Verfahren besteht darin, dass man die Schnitte zunächst in einer frisch filtrirten und am besten auch frisch zubereiteten Lösung von Gentianaviolett in Anilinwasser, deren Herstellung auf pag. 20 beschrieben ist, färbt. Die Schnitte sind dabei direct aus absolutem Alcohol in die Farbe zu übertragen. Nach der Färbung kommen sie direct oder nach momentaner Abspülung in absolutem Alkohol auf 1—3 Minuten in eine schwache Jodlösung (Jod 1,0, Jodkalium 2,0, destillirtes Wasser 300,0) und werden von da in absoluten Alcohol verbracht. Ist in letzterem eine vollständige oder nahezu vollständige Entfärbung eingetreten, so werden die Schnitte in Nelkenöl oder in Terpentinöl untersucht oder in Canadabalsam eingeschlossen. Wünscht man dem entfärbten Gewebe eine Färbung zu geben, so werden die Schnitte nach der vollständigen Entfärbung in Alcohol durch wässerige Bismarkbraun- oder Vesuvinlösung braun gefärbt und danach in Canadabalsam eingeschlossen.

Das Verfahren liefert ausgezeichnete Präparate. Bei dem Suchen nach Mikrokokken sind Irrthümer dadurch möglich, dass die Körner der sog. Mastzellen sich nicht hinlänglich entfärbt haben.

In gut gefärbten Präparaten sind die Bacterien mit Leichtigkeit mit jedem guten stärkeren Objectivsystem aufzufinden. Colonieen sieht man schon bei schwacher Vergrösserung. Zur genaueren Untersuchung ist indessen eine Oelimmersion $^1/_{12}$ und ein Abbe'scher Beleuchtungsapparat nothwendig.

Hat man keine geeigneten Farbstoffe zur Verfügung, so kann man Bacterien durch Behandlung der Schnitte mit Essigsäure oder mit etwa zweiprocentiger Kali- oder Natronlauge, gegen welche sie (mit Ausnahme der Recurrensspirillen) sehr resistent sind, sichtbar machen. Irrthümer sind indessen leicht möglich.

3. **Uebersicht über die Färbung der verschiedenen pathogenen Bacterien.**

Die **Mikrokokken** färben sich gut mit Gentianaviolett, Methylviolett, Methylenblau, Bismarkbraun, Fuchsin. Die Kapsel der Pneumoniekokken (FRIEDLÄNDER) färbt sich mit Gentianaviolett und Fuchsin nur schwach, mit Bismarkbraun und Methylenblau dagegen nahezu ebenso dunkel, wie die Kokken selbst. Die Gram'sche Methode ist nur bei Färbungen mit Gentianaviolett anwendbar.

Milzbrandbacillen färben sich mit den am meisten gebräuchlichen Anilinfarben. In Schnitten färbt man sie mit Lösungen von Gentianaviolett in Anilinwasser und entfärbt mit der Gram'schen Methode. Sehr schöne Präparate erhält man auch (WEIGERT) durch folgendes Verfahren: Schnitte 2—5 Minuten in 1 % wässeriger Gentianaviolettlösung, Auswaschen in Alcohol, Eintauchen in Wasser, $^1/_2$ bis 1 Stunde in Pikrocarmin (von Grübler zu beziehen), sodann Alcohol, Nelkenöl, Canadabalsam.

Leprabacillen färben sich gut mit Gentianaviolett und Fuchsin und verhalten sich Farbstoffen gegenüber ähnlich wie Tuberkelbacillen. Am Deckgläschen oder Objectträger ausgestrichener Saft muss sofort nach dem Antrocknen gefärbt werden, da nach einiger Zeit die Färbung schlecht gelingt.

BABES empfiehlt eine Färbung in einer Lösung von salzsaurem Rosanilin in Anilinwasser, Entfärbung durch 33 % Salpetersäure und nachherige Kernfärbung in Methylenblau.

Tuberkelbacillen im Sputum werden in der Weise aufgesucht, dass man Theile desselben, namentlich die in demselben enthaltenen weissen Bröckel, zwischen zwei Deckgläschen zerquetscht und dann die Deckgläschen von einander abzieht. Nach Trocknung und Fixirung des Belages durch Erwärmen (s. p. 19) wird die Färbung vorgenommen. Als Färbemittel dienen frisch zubereitete Lösungen von Gentianaviolett oder Methylviolett oder Diamantfuchsin in Anilinwasser (s. p. 20). Hat man kein Anilinwasser zur Verfügung, so kann man auch eine zweiprocentige Lösung von Gentianaviolett, der man 0,5 % Liquor ammon. caust. zusetzt, benutzen (WEIGERT). Sowohl Deckgläschenpräparate als auch Schnitte werden am besten 24 Stunden gefärbt, dann in destillirtem Wasser abgespült, in einer Mischung von 3 Theilen Salpetersäure und 100 Theilen Alcohol in wenig Minuten entfärbt, in reinem Alcohol abgespült und in Terpen-

tinöl resp. Canadabalsam untersucht. Deckgläschenpräparate kann man auch in Wasser untersuchen. Will man das Präparat nachträglich aufheben, so lässt man es trocknen und schliesst es in Canadabalsam ein.

Die Färbung kann auch auf dem Objectträger vorgenommen werden, auf welchem man das Sputum sorgfältig ausgebreitet hat.

Blaue Tuberkelbacillenpräparate kann man mit Bismarkbraun, rothe mit Methylenblau nachfärben. Man benutzt dazu verdünnte wässerige Lösungen, damit die Färbung nicht zu intensiv wird.

Will man Deckgläschenpräparate rasch färben, so erreicht man dies (RINDFLEISCH) in der Weise, dass man die Farbe, z. B. Fuchsinlösung, in eine kleine Porzellanschale bringt, das Deckgläschen mit der belegten Seite nach unten vorsichtig auf die Flüssigkeit auflegt, so dass es schwimmt, und die Schale über einer Flamme so lange erwärmt, bis reichlich Dämpfe auftreten. Danach lässt man das Präparat noch 5 Minuten stehen und verfährt dann wie oben angegeben.

Zur Entfärbung kann man (GAFFKY) auch eine Mischung: ein Volum officineller Salpetersäure in 4 Vol. Wasser und danach gewöhnlichen Spiritus benutzen, ein Verfahren, durch welches die Entfärbung in wenigen Secunden bewerkstelligt ist.

GUTTMANN empfiehlt zur Entfärbung eine Mischung von ein Theil Salpetersäure in 100 Th. Spiritus mit 70% Alcoholgehalt.

ORTH benutzt zur Entfärbung eine Mischung von 1 Th. Salzsäure mit 100 Th. Spiritus, mit ungefähr 70% Alcoholgehalt.

Tuberkelbacillen lassen sich nach der Gram'schen Methode färben, doch muss man dabei das Gentianaviolett 12—24 Stunden einwirken lassen.

Schnitte, welche Präparaten entstammen, welche nur in Müller'scher Flüssigkeit gehärtet sind, müssen vor der Färbung 24 Stunden in absolutem Alcohol und dann 48 Stunden in Fuchsin eingelegt werden.

Rotzbacillen färben sich mit concentrirter wässeriger Methylenblaulösung. SCHÜTZ empfiehlt eine Mischung von Kalilauge 1 : 10,000 und concentrirte alcoholische Methylenblaulösung zu gleichen Theilen, in welcher die Schnitte 24 Stunden liegen bleiben. Danach werden sie in angesäuertem Wasser abgespült, 5 Minuten in 50% und 15 Minuten in absolutem Alcohol, dann in Cedernöl oder Terpentinöl und in Canadabalsam eingelegt.

Typhusbacillen nehmen alle Färbungen nur unvollkommen an. Am besten gelingen Färbungen mit Gentianaviolett und Methylenblau, wenn man die Farbstoffe 24 Stunden einwirken lässt oder wenn man die Färbeflüssigkeit erwärmt.

Cholerabacillen werden aus dem Inhalt des Darmes in der Weise gewonnen (KOCH), dass man ein stecknadelkopfgrosses Schleimflöckchen mit einem Platindraht auf den Rand des mit dem Stuhl gefüllten Gefässes hinaufzieht und auf einem Deckgläschen ausbreitet. Nach dem Trocknen und Erhitzen des Deckgläschens werden

einige Tropfen der oben (pag. 19) angegebenen wässerigen Fuchsin- oder Methylenblaulösung aufgegossen und nach einigen Secunden mit destillirtem Wasser abgespült. Sodann wird mit Hülfe eines Oelimmersionsystems $^1/_{12}$ und eines Abbe'schen Beleuchtungsapparates in Wasser untersucht. Um sie in Schnitten aufzusuchen, wird der Darm in absolutem Alcohol gehärtet und die Schnitte in starker wässeriger Methylenblaulösung 24 Stunden gefärbt und dann wie gewöhnlich behandelt.

Babes empfiehlt, um die Bacillen in alten Darmpräparaten aufzusuchen, Färbung mit concentrirter alcoholischer Fuchsinlösung unter Erwärmen der letzteren. Der Schnitt kann dann mit schwacher Sublimatlösung oder mit schwacher Jod-Jodkaliumlösung entfärbt und danach mit Alcohol und Nelkenöl behandelt und in Canadabalsam eingelegt werden.

Recurrensspirillen färben sich in Trockenpräparaten von Blut mit Gentianaviolett, Methylviolett und Fuchsin. In Schnitten gehärteter Organe sind sie sehr schwer zu färben, doch gelingt es, nach Koch, mit braunen Anilinfarben. Durch Säuren und Alcalien, sowie durch destillirtes Wasser werden die frischen Spirillen zerstört.

B. Das Verfahren bei Anlegen von Reinculturen*).

Zum Studium der morphologischen und physiologischen Eigenschaften der Bacterien ist es nöthig, dass von denselben **Reinculturen** angelegt werden. Man hat zu diesem Zwecke früher schon verschiedene Nährlösungen empfohlen und meist künstliche Nährlösungen in flüssiger Form benutzt. Nägeli bezeichnet als künstliche Normallösungen für Spaltpilze folgende: 100,0 Wasser, 1,0 weinsaures Ammonium, 0,1 Dikaliumphosphat, 0,02 Magnesiumsulfat, 0,01 Calciumchlorid; oder 100,0 Wasser, 1,0 Eiweisspepton oder lösliches Eiweiss, 0,02 Dikaliumphosphat, 0,04 Magnesiumsulfat, 0,02 Calciumchlorid. Für manche Spaltpilze muss die Concentration erhöht, für andere verringert werden.

Zur Herstellung von Reinculturen aus einem Bacteriengemisch sind flüssige Nährsubstrate nicht geeignet. Weit zweckmässiger sind feste Nährböden (Koch), welche man im Allgemeinen in der Weise herstellt, dass man Infusen von Fleisch, Heu, Weizen, Brod etc. 5—10 % Gelatine oder 1—3 % Agar-Agar zusetzt. Am häufigsten werden Fleischwasser-Pepton-Gelatine, Fleischwasser-Pepton-Agar-Agar und sterilisirtes gelatinirtes Blutserum benutzt.

Zur Bereitung der **Fleischwasser-Pepton-Gelatine** werden

---

*) Das in diesem Abschnitt Enthaltene ist im Wesentlichen den Berichten, welche Johne (Deutsche Zeitschr. f. Thiermed. XI) und Biedert (Deutsche Medicinalz. VI. 1884) über die von R. Koch geleiteten bac[illegible] chen Kurse im k. Gesundheitsamte gegeben haben, ent-
n[illegible]

250 Grm frisch gehacktes, möglichst fettfreies Rindfleisch mit 500 Grm destillirten Wassers zusammengerührt, über Nacht auf Eis stehen gelassen und nach wiederholtem Umrühren durch ein feines Seihtuch in ein Becherglas gepresst. Die ausgepresste Flüssigkeit wird durch Nachfüllen von destillirtem Wasser auf 400 Cubctm gebracht, 4 Grm Peptonum siccum (= 1 $\frac{0}{0}$), 2 Grm Kochsalz (= 0,5 $\frac{0}{0}$) und 40 Grm (= 10 $\frac{0}{0}$) gewöhnliche weisse Speisegelatine zugesetzt. Ist letztere aufgequollen, so wird das Becherglas in einem Wasserbade bis zur völligen Lösung der Gelatine mässig erwärmt und dann mit einer gesättigten Lösung von kohlensaurem Natron sorgfältig neutralisirt und zwar so, dass empfindliches rothes Lackmuspapier leicht gebläut wird. Ist die Lösung zu alkalisch, so wird Milchsäure zugesetzt.

Hierauf wird das Ganze in einem Wasserbade ½ bis 1 Stunde lang bis zu völligem Ausfällen des Eiweiss gekocht und die Flüssigkeit heiss durch Filter von schwedischem Filtrirpapier in sterilisirte, mit Wattepfröpfen versehene Reagirgläschen filtrirt. Die Reagirgläschen werden nur zu einem Drittel gefüllt. Die Gelatine ist gelblich gefärbt und vollkommen klar. Nach dem Einfüllen werden die Reagirgläschen sofort wieder mit dem Wattepfropf geschlossen und ihr Inhalt die nächsten 4 Tage je einmal durch Erhitzen über einer Flamme oder in einem Wasserbade zum Aufkochen gebracht. Es ist dabei zu beachten, dass der Wattepfropf nicht von der aufkochenden Gelatine benetzt wird. Eine Trübung durch ausgefälltes Eiweiss darf sich beim Aufkochen nicht einstellen.

Fleischwasser-Pepton-Agar-Agar wird in ähnlicher Weise bereitet, nur wird statt Gelatine 1—3 $\frac{0}{0}$ Agar-Agar zugesetzt.

Blutserumgelatine erhält man in der Weise, dass man möglichst reines Rinder- oder Schafblutserum in sterilisirte, mit einem Wattepfropf versehene Reagirgläser füllt und 6 Tage hindurch täglich eine Stunde auf 59 ° C. erwärmt. Dann wird es mehrere Stunden auf 65 ° erwärmt, bis es erstarrt. Das Blutserum selbst wird in der Weise gewonnen, dass man frisches Thierblut in einem sterilisirten verschlossenen cylindrischen Gefäss ein bis zwei Tage an einem kühlen Orte stehen lässt, wobei sich das Serum vom Blutknochen trennt und mit einer Pipette aufgesogen werden kann.

Da die Herstellung bacterienfreier Nährgelatine nicht ohne Schwierigkeiten ist, so ist dem Ungeübten zu rathen, fertige Nährgelatine in sterilisirten Reagirröhrchen zu beziehen. Dr. Carl Roth in Berlin N. Strassburgerstrasse No. 18 und Dr. Theodor Schuchardt liefern dieselbe nach den im k. Gesundheitsamte von Koch aufgestellten Vorschriften.

Fleischwasser-Pepton-Gelatine dient zu Culturen bei Zimmertemperatur oder jedenfalls unter 25 ° C., da sie sich bei höheren Temperaturen verflüssigt. Blutserum und Agar-Agar werden zu Culturen bei höheren Temperaturen benutzt.

Zur Anlegung der Culturen sind verschiedene Apparate und Utensilien nöthig. Die im k. Gesundheitsamte zur Verwendung

kommenden werden von Dr. Robert Muencke Berlin N. W. Luisenstrasse No. 58, sowie von Dr. Hermann Rohrbeck Berlin N.W. Friedrichstrasse No. 100 geliefert. Es sind indessen nicht alle in dem Catalog enthaltenen Apparate nothwendig. Bei den meisten Untersuchungen kann man mit wenigen Apparaten und Utensilien auskommen.

Alle Instrumente und Utensilien, welche bei Anlegung von Culturen benutzt werden, müssen vor dem Gebrauch sterilisirt werden. Es geschieht dies theils durch Waschungen mit wässerigen Sublimatlösungen von 1 $^0/_{00}$, theils durch Erhitzung. Wer einen Sterilisationskasten zur Verfügung hat, desinficirt die Reagirgläschen, Glasplatten etc. durch Erhitzung derselben auf 160 ° während 1 bis 2 Stunden. Ist ein Sterilisationsofen nicht zur Hand, so kann man Glasplatten und Reagirgläschen über einer Flamme stark erhitzen. Die verschiedenen im Gebrauche stehenden Nadeln sollen aus Platin bestehen und werden vor dem Gebrauche ausgeglüht.

Das bei **Herstellung von Reinculturen** im k. Gesundheitsamte übliche Verfahren ist folgendes:

Die in einem Reagirgläschen befindliche sterilisirte Nährgelatine wird in gelinder Wärme verflüssigt und von der zu untersuchenden Substanz (Wasser, Blut, Eiter, Schleimflocken aus dem Darm, von einer frischen Schnittfläche mit geglühtem Messer abgeschabte Gewebsmasse) ein Tröpfchen oder ein kleines Partikelchen mit Hülfe eines ausgeglühten und mit einer Oese versehenen Platindrahtes eingebracht und durch Schütteln in derselben vertheilt. Enthält die zu untersuchende Masse voraussichtlich reichlich Bacterien, so wird aus dieser Mischung im Originalglas vermittelst des wieder ausgeglühten Platindrahtes ein Tropfen oder auch mehrere in ein zweites erwärmtes Reagirgläschen mit Nährgelatine gebracht und durch Bewegungen des Drahtes oder durch Schütteln in derselben vertheilt. Von dieser kann eventuell noch eine dritte Uebertragung stattfinden. Der in dem Reagirgläschen steckende Wattepfropf ist unmittelbar vor der Impfung herauszunehmen und nach der Impfung sofort wieder einzusetzen.

Der Inhalt der inficirten Reagirröhrchen wird weiterhin, sobald er dem Erstarren nahe ist, jeder für sich auf eine sorgfältig gereinigte, durch starkes Erhitzen über einer Gas- oder Spiritusflamme oder in einem Sterilisationskasten desinficirte Glasplatte gegossen und mit einem durch Hitze desinficirten Glasstabe gleichmässig im mittleren Bezirk der Glasplatte ausgebreitet. Die verschiedenen Glasplatten werden auf kleinen Glasbänkchen übereinandergelegt und zwar so, dass das Original zu unterst, die erste Verdünnung über demselben liegt u. s. w. Das Ganze wird in einer feuchten Kammer, welche durch zwei aufeinander passende, mit Filtrirpapier, welches mit Sublimatlösung von 1 : 1000 durchtränkt ist, ausgelegte, zuvor mit Sublimatlösung desinficirte Glasglocken oder durch zwei ebenso vorbereitete Suppenteller hergestellt wird. [illegible] die Glasplatten in der feuchten Kammer bei Zim-

mertemperatur stehen, so erscheinen bei Anwesenheit von Mikroorganismen, welche sich bei dieser Temperatur vermehren, vom zweiten bis dritten Tage ab Colonieen, welche bei genügender Vertheilung der einzelnen Organismen bereits Reinculturen darstellen und je nach den zur Entwickelung gelangenden Spaltpilzformen bestimmte Eigenthümlichkeiten besitzen.

Aus diesen Colonieen werden mit einer feinen, an der Spitze auf einen Millimeter Länge leicht hakenförmig gekrümmten ausgeglühten Platinnadel minimale Mengen von Pilzen entnommen und die Procedur mit den Platten noch einmal wiederholt. Sind die Culturen nur klein, so muss die Entnahme von Impfmaterial aus der Cultur unter dem Mikroskope oder mit Hülfe einer Lupe vorgenommen werden.

In die danach entstandenen Reinculturen wird die Spitze einer zuvor ausgeglühten Platinnadel eingetaucht und die Nadel danach in die Nährgelatine eines (nicht erwärmten) Reagirröhrchens eingestossen.

Vielfach werden zu Culturen auch nicht mehlig kochende **Salatkartoffeln** benutzt. Um eine Kartoffel zu diesem Zwecke geeignet zu machen, wird sie sorgfältig mit einer Bürste gereinigt und gewaschen und dann eine Stunde in eine halbprocentige Sublimatlösung gelegt. Danach wird sie eine halbe Stunde in strömendem Wasserdampf gar gekocht, darf jedoch dabei nicht aufspringen. Die Kartoffel wird sodann durch ein zuvor ausgeglühtes Messer in zwei Hälften zerlegt und das Pilzmaterial vermittelst eines ausgeglühten Scalpells auf die Schnittflächen aufgestrichen und die beiden Hälften in eine feuchte Kammer verbracht. Die Kartoffel wird dabei nur an den mit der Schale bedeckten Stellen angefasst und die Hand, in welcher sie gehalten wird, ist vorher mit Sublimatlösung (1 : 1000) zu desinficiren.

Durch Wiederholung der Ueberimpfung kann man die verschiedenen Spaltpilzformen in zahlreichen Generationen weiter züchten. Ihre pathogenen Eigenschaften werden durch Impfung von Thieren geprüft, wobei als Ort der Impfung das subcutane Gewebe oder die Bauchhöhle oder der Darm oder das Auge oder die Lunge oder das Blut gewählt werden. Bei Injection in das Gefässsystem wird mit Vorliebe eine Iugularvene benutzt und die Pilze zur Injection in durch Kochen sterilisirter Kochsalzlösung von 0,75 % Salzgehalt vertheilt. Bei der Beurtheilung des Effectes ist stets zu berücksichtigen, dass Thiere gegen Spaltpilze sich vielfach anders verhalten als der Mensch, und dass auch die verschiedenen Thiere in ihrem Verhalten differiren. Am häufigsten werden Kaninchen, Meerschweinchen, Mäuse, Ratten, Hunde, Tauben, Sperlinge und Hühner zur Impfung benutzt.

Will man eine Cultur genauer mikroskopisch untersuchen, so wird mit einer feinen an der Spitze hakenförmig gekrümmten Nadel etwas Pilzmaterial aus derselben genommen und in der oben be-

schriebenen Weise in einem Tröpfchen Wasser auf ein Deckgläschen ausgebreitet, getrocknet und gefärbt.

Eine weitere Art der Bacteriencultur, welche eine genauere Betrachtung der Bacterien während des Lebens gestattet, ist die **Cultur im hängenden Tropfen.** Man benutzt dazu neutralisirte Bouillon, welche ebenso zubereitet wird, wie die Fleischwasserpeptongelatine, nur dass man den Zusatz von Gelatine und von Pepton unterlässt.

Nach der Neutralisation wird die Lösung eine Stunde im Wasserbade gekocht und zur Aufbewahrung heiss durch schwedisches Filtrirpapier in sterilisirte Reagirröhrchen filtrirt, die mit einem sterilisirten Wattepfropf verschlossen werden.

Nach Verschluss mit dem Wattepfropfen wird die Flüssigkeit in den Reagirgläschen in den nächsten Tagen ohne Lüftung des Pfropfes noch einige Male über einer Gas- oder Spiritusflamme aufgekocht.

Zur Cultur benutzt man ein kleines Tröpfchen, welches man vermittelst der Oese eines ausgeglühten Platindrahtes auf die Mitte eines sorgfältig gereinigten Deckglases bringt und hier mit dem Impfmaterial aus einer Plattencultur oder Stichcultur oder einer andern bacterienhaltigen Substanz vermittelst einer spitzen Platinnadel inficirt. Das Impfmaterial wird mit der Spitze der Nadel im Tropfen vertheilt, ohne den Tropfen weiter auszubreiten. Das in dieser Weise vorbereitete Deckgläschen wird danach umgedreht und auf die Vertiefung eines hohlgeschliffenen Objectträgers (zu beziehen bei H. Vogel in Giessen, W. P. Stender, Naundörfchen Leipzig, G. König, Berlin N. W. Dorotheenstrasse No. 35 u. A.) gesetzt, dessen Vertiefung am Rande zuvor mit einer dünnen Lage von Vaselin umgeben worden ist. Hängt der Tropfen über der Mitte der Vertiefung und ist der Verschluss durch das Vaselin gut hergestellt, so erhält man auf diese Weise eine kleine Kammer, in welcher die Bacterienentwickelung in den folgenden Tage mit Oelimmersionen verfolgt werden kann. Da das Object ungefärbt ist, so ist im Mikroskop eine Blende mit kleiner Oeffnung einzusetzen.

Will man die Bacterien auf einer gewissen Entwickelungsstufe fixiren und sie aufbewahren, so hebt man das Deckgläschen ab, dreht es um, lässt die Flüssigkeit eintrocknen, wischt die Vaseline ab und färbt in der früher angegebenen Weise.

Zur **Untersuchung der in der Luft enthaltenen Keime** füllt man (Koch) ein gewisses Quantum Nährgelatine in ein Glasschälchen und lässt dasselbe mit Hilfe eines Messingbleches in ein sterilisirtes cylindrisches Gefäss hinter, welches mit einem sterilisirten Wattepfropf verschlossen wird.

Nach dem Erstarren der Gelatine wird das Schälchen durch Wegnahme des Wattepfropfes eine bestimmte Zeit, 2 bis 24 Stunden der Luft ausgesetzt und der Wattepfropf wieder aufgesetzt. In den nächsten Tagen gelangen dann die auf die Nährflüssigkeit gefallenen Keime zur Entwickelung.

Ein anderes Verfahren besteht darin (Hesse), dass man in einer Glasröhre von 50 bis 100 Ctm. Länge und 4 bis 5 Ctm. Weite, die auf der einen Seite durch eine durchbohrte und durch eine undurchbohrte Kautschukmembran geschlossen ist, ein gewisses Quantum Nährgelatine einfüllt und danach mit einem durchbohrten Kautschukpfropf, in welchem eine mit einem Wattepfropf versehene Glasröhre steckt, schliesst. Durch Erhitzen in strömendem Wasserdampfe wird die Röhre sterilisirt und danach die Gelatine in horizontaler Lage zum Erkalten hingelegt. Ist die Gelatine starr geworden, so nimmt man die undurchbrochene Kautschukkappe ab, setzt das andere Ende mit einem Aspirator in Verbindung und lässt ein bestimmtes Quantum Luft über die Nährgelatine streichen.

Bei **Untersuchung von Wasser** wird in der früher für Blut, Eiter etc. angegebenen Weise verfahren, d. h. es werden eine Anzahl Tropfen Wassers mit Nährgelatine in der Wärme vermischt und die inficirte Gelatine auf eine sterilisirte Glasplatte ausgegossen.

Bei **Untersuchung von Bodenproben** werden feine Partikelchen derselben in der erwärmten Nährgelatine vertheilt und dann auf Platten ausgegossen oder es wird die ausgegossene Gelatine mit Erdproben bestreut.

Von den bei der ersten Impfung erhaltenen Colonieen wird jeweilen in der früher beschriebenen Weise weiter geimpft.

VIII. Die Untersuchung von Schimmel- und Sprosspilzen.

Zur Untersuchung der beim Menschen vorkommenden **Fadenpilze** werden die von den Pilzen durchwachsenen Gewebe iu Wasser oder Kochsalzlösung zertheilt und zerzupft und es gelingt meist schon auf diese Weise sich die einzelnen Bestandtheile der Pilze zur Anschauung zu bringen. Sind die Gewebe in denen sie liegen wenig durchsichtig, so kann man sie durch Anwendung einer 1—3 % Kali- oder Natronlauge aufhellen. Glycerin und Alcohol verursachen eine erhebliche Schrumpfung der Pilzfäden. Zur Härtung mit Fadenpilzen durchwachsener Gewebsstücke benutzt man gewöhnlich Alcohol, um ein postmortales Auswachsen möglichst bald und sicher zu verhindern. In Müllerscher Flüssigkeit sind indessen die Schrumpfungen geringer.

Zur **Färbung** eignen sich Anilinfarben, namentlich Vesuvin, doch verhalten sich die verschiedenen Species gegen die einzelnen Farben verschieden. Aspergillus färbt sich mit Fuchsin, Methylviolett und Vesuvin. Für die Untersuchung der Dermatophyten empfiehlt Balzer die mit denselben behafteten Haare, Schuppen und Favusscutula zuerst mit Alcohol und Aether zu entfetten. Danach werden sie einige Stunden mit wässeriger oder alcoholischer Lösung von Eosin oder von Chinolinblau gefärbt, und danach in der gewohnten Weise, d. h. nach Behandlung mit Alcohol und

Nelkenöl in dünnflüssigem Kanadabalsam eineschlossen. Verzichtet man auf das Einlegen, so untersucht man in 40procentiger Kalilauge.

Actinomyces färbt sich mit (Weigert) Wedl'scher Orseille, die man eine Stunde einwirken lässt. Danach wird das Präparat in Alcohol oberflächlich ausgewaschen und mit Gentianaviolett nachgefärbt. Die Kerne der Gewebszellen werden dabei blauviolett, die Pilzstrahlen rubinroth, das Bindegewebe orange gefärbt. Zur Färbung mischt man 20 Cctm. Alcohol absolutus mit 5 Cctm. Eisessig und 4 Cctm. destillirtem Wasser und setzt diesem Gemisch von der käuflichen Orseille (die man zum Verdampfen des Ammoniakes einige Tage an der Luft hat stehen lassen) so viel zu, dass eine tiefrothe Lösung entsteht.

Zur Herstellung von **Reinculturen** von Fadenpilzen verfährt man in derselben Weise, wie bei Spaltpilzen (pag. 26) und legt zunächst *Plattenculturen* an. Nägeli und Brefeld vertheilen kleine Portionen von Sporen in so viel destillirtem Wasser, bis sie in einem Tropfen bei der mikroskopischen Untersuchung nur noch eine Spore finden. Ist diese Vertheilung erreicht, so werden verschiedene sterilisirte Nährboden mit je einem Tropfen Wasser geimpft. Das Koch'sche Verfahren mit der verflüssigten Nährgelatine (pag. 26) ist diesem vorzuziehen.

Ist eine Pilzspore auf irgend einem Nährboden zur Entwickelung gelangt, so wird sie hier weiter gezüchtet bis sie fructificirt. Von den Conidien werden alsdann neue Culturen auf sterilisirtem Nährboden angelegt.

Die Cultivirung wird theils bei gewöhnlicher Temperatur, theils bei höheren Temperaturen im Brütofen vorgenommen. Wächst von zwei untereinander gemischten Pilzen der eine nur bei niedrigen, der andere dagegen auch bei höheren Temperaturen, so kann man durch Einsetzen der Cultur in den Brütofen eine Reincultur des letzteren erhalten.

Als **Nährboden** können für viele Fadenpilze die für Spaltpilzculturen in Gebrauch stehenden Nährgelatinen benutzt werden, doch muss man meistens noch Zucker (bis 5 %) und Säure (Weinsteinsäure bis 5 % oder Phosphorsäure bis 1 %) zusetzen. Sodann werden mit Vorliebe Decocte von getrockneten Pflaumen oder Rosinen, Decocte von Mist von Pflanzenfressern, Abkochungen von Hefe mit Zuckerzusatz, Zuckerlösungen (bis 10 %) mit weinsaurem Ammoniak (bis 1 %) und Asche von Hefe oder von Cigarren, Brodinfuse, Weizeninfuse etc. zur Cultur von Schimmelpilzen benutzt. Durch Zusatz von 5—10 % Gelatine kann man aus den betreffenden Flüssigkeiten feste Nährboden machen. Häufig werden als Nährsubstrat auch Scheiben von gekochten Kartoffeln, feuchtes Brod, Pferdemist etc. benutzt. Brod kann man dazu mit verschiedenen Decocten düngen.

Aspergillus wächst (Siebenmann) gut auf feuchtem Schwarzbrod, 10—15 % Gelatine mit 0,5 % Tanninzusatz, sowie auf Blutserum

und auf Hühnereiweiss, dagegen schlecht auf Fruchtsäften, während Eurotium auf letzteren sehr gut gedeiht. Mucor wächst gut auf Pferdemist und Pferdemistdecocten.

Actinomyces wächst nach Boström sowohl auf Fleischwasser-Pepton-Gelatine als auch auf Fleischwasser-Pepton-Agar-Agar und auf Blutserum, am besten indessen auf letzteren. Boström legt in Fleischwasser-Pepton-Gelatine Plattenculturen an und impft dann auf Agar-Agar oder auf Blutserum.

Zur **Cultur von Sprosspilzen** benutzt man Malzdecocte, Bierwürze, Most oder eines der oben aufgeführten Decocte, denen man noch Zucker zusetzt.

IX. Untersuchung der thierischen Parasiten.

Die Untersuchung der **thierischen Parasiten** bietet, so fern es sich nicht um eingehendere Untersuchung ihres Baues handelt, keine Schwierigkeiten. Viele, wie z. B. Acarus scabiei, Acarus folliculorum, Oxyuris vermicularis, Trichocephalus dispar, Anchylostoma duodenale, Trichina spiralis, Distoma hepaticum und lanceolatum etc. können ohne Weiteres in Wasser mikroskopisch untersucht werden. Häufig ist es dabei von Vortheil, durch einen mässigen mit einer Präparirnadel ausgeübten Druck auf das Deckgläschen das betreffende Thier platt zu drücken. Die Eier der Nematoden, Trematoden und Cestoden werden ebenfalls im Wasser untersucht.

Muskeltrichinen können sowohl durch Zerzupfungspräparate als durch Schnittpräparate aufgesucht werden. Das Gefriermikrotom leistet hier gute Dienste. Die Schnitte dürfen nicht zu dünn gemacht werden. Neuerdings wird sehr empfohlen dickere Schnitte mit wässerigen Lösungen von Methylgrün (1 : 30), durch welche die Trichinenkapseln sehr scharf hervortreten, zu färben und danach gut auszuwässern.

Die zarten Protozoen werden mit Vortheil mit fixirenden und färbenden Reagentien, wie Osmiumsäure (s. pag. 10), Chromsäure, Jod, Anilinfarben etc. behandelt. Darminhalt mit Protozoen bringt man zunächst ohne Zusatz oder mit Kochsalzlösung vermischt unter das Mikroskop. Coccidien färben sich in gehärteten Präparaten gut mit Gentianaviolett und Vesuvin.

Die Köpfe der Bandwürmer betrachtet man mit schwacher und mittelstarker Vergrösserung in Wasser oder Kochsalzlösung oder Glycerin. Echinococcenscolices kann man mit einem Scalpell von der Wand der Blasen abschaben und in Wasser oder Glycerin untersuchen. Haken sind oft noch in Zerzupfungspräparaten von abgestorbenen und verkalkten Echinococcen nachweisbar. Den Scolex des Cysticercus cellulosae kann man sich durch Zerreissen der Blase frei machen. Danach wird er zur Untersuchung des Hakenkranzes und der Saugnäpfe unter dem Deckglase zerquetscht.

Durch Compression eines frischen reifen Bandwurmgliedes zwischen zwei Objectträger kann man sich auch die Verzweigung des mit Eiern gefüllten Uterus zur Anschauung bringen.

Durchschnitte durch die Wand einer Echinococcusblase mit einem Rasirmesser oder auch nur mit einer Scheere ausgeführt und in Wasser ausgebreitet, bringen die Schichtung der Cuticularmasse sehr schön zur Anschauung.

Zur Aufbewahrung und Härtung wird gewöhnlich Spiritus benutzt. In Müller'scher Flüssigkeit werden sie leicht spröde. Wenn die einzelnen Theile bei Anlegung von Schnitten leicht auseinanderfallen, so zieht man Celloidineinbettung (pag. 9) in Anwendung. Zur Färbung benutzt man kernfärbende Farben oder Doppelfärbungen mit letzteren und mit Eosin oder Carmin.

Die mikroskopischen Präparate können sowohl in Glycerin als in Canadabalsam aufgehoben werden. Ersteres ist namentlich bei ungefärbten Präparaten zu empfehlen.

X. Uebersicht über die Behandlung der einzelnen Gewebe und Organe zum Zwecke mikroskopischer Untersuchung*).

1) **Blut und Lymphe** werden zweckmässig nach den auf pag. 18 u. 19 angegebenen Methoden untersucht. Wird die Flüssigkeitsschicht bei dem zuerst erwähnten Verfahren noch zu zellreich, so kann eine Verdünnung dadurch erzielt werden, dass man das Blut mit Kochsalzlösung von 0,8 % mischt.

Bei Blutabnahme aus der Haut des Lebenden lässt man das Blut aus der Stichwunde direct in den Capillarraum einfliessen oder setzt auf die gereinigte Haut ein Tröpfchen Kochsalzlösung und sticht innerhalb des Tröpfchens ein. Bei Anfertigung von Trockenpräparaten ist es, falls die Blutkörperchen gut erhalten bleiben sollen, zweckmässig, wenn man den Objectträger vor dem Aufstreichen des Blutes erhitzt, so dass eine sofortige Eintrocknung eintritt.

Häminkrystalle erhält man aus eingetrocknetem Blut in folgender Weise: Blutflecken auf hartem Gegenstande, z. B. Holz werden sorgfältig abgeschabt und die rothe Masse auf einem Objectträger oder in einem flachen Uhrschälchen gesammelt und danach in einer geringen Menge destillirten Wassers aufgelöst. Von Flecken in Leinwand und Aehnlichem schneidet man besser kleine Stücke aus, legt sie auf Objectträger und zieht mit wenig destillirtem Wasser aus. Nach Entfernung der ausgezogenen und ausge-

*) Das Verfahren, welches zur Untersuchung besonderer Veränderungen, wie z. B. von Amyloiddegeneration, Verfettung, Mycosen etc. eingeschlagen wird, ist in der nachstehenden Uebersicht nicht mehr angeführt, indem das Nöthige schon in früheren Capiteln enthalten ist. Die Schnitte werden, wo es nicht anders bemerkt ist, in Canadabalsam aufgehoben.

pressten Gewebsstücke sowie allfällig vorhandener Verunreinigungen lässt man das mehr oder weniger roth gefärbte Wasser eintrocknen, setzt dann ein stecknadelkopfgrosses Tröpfchen Kochsalzlösung von 0,8 % zu, breitet dasselbe über die Oberfläche aus und lässt es wieder eintrocknen. Ist dies geschehen, trägt man mit einem Glasstabe reinen Eisessig auf, deckt mit einem grossen Deckgläschen zu, wobei man zweckmässig ein feines Haar unter das Deckgläschen legt, und erwärmt den Objectträger über einer Spiritusflamme so stark, bis der Eisessig aufkocht, also Blasen bildet. Durch fortgesetztes gelindes Erwärmen wird danach der Eisessig verdampft und es scheiden sich bei seiner Verflüchtigung die braunen Häminkrystalle aus. Nimmt man die Procedur in einer Uhrschale vor, so ist das Aufsetzen eines Deckgläschens beim Kochen des Eisessig nicht nöthig.

2) **Herz und Gefässe.** Härtung in Müller'scher Flüssigkeit oder Alcohol. Färbung in Hämatoxylin oder Alauncarmin, Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Carmin.

3) **Milz und Lymphdrüsen.** Härtung in Müller'scher Flüssigkeit. Bei den Lymphdrüsen ist auch Alcoholhärtung anwendbar. Färbung in Hämatoxylin oder Alauncarmin.

4) Die **serösen Häute.** Behandlung wie bei 2.

5) Die **äussere Haut.** Behandlung wie bei 2.

6) Die **Schleimhäute.** Die Härtung in Müller'scher Flüssigkeit ist weit schöner als in Alcohol. Färbung mit Hämatoxylin oder Alauncarmin.

7) Die **Gewebe des Darmkanales** werden alle in Müller'scher Flüssigkeit weit besser als in Alcohol. Färbung wie bei 6.

8) **Leber und Pankreas.** Härtung in Müller'scher Flüssigkeit oder in Alcohol. Färbung in Hämatoxylin oder Alauncarmin. Doppelfärbung mit Alauncarmin und Eosin.

9) Der **Harnapparat.** Härtung wie bei 8. Zur Färbung des Nierengewebes ist Alauncarmin oder auch Gentianaviolett dem Hämatoxylin vorzuziehen. Doppelfärbung wie bei 8.

10) Der **Respirationsapparat.** Härtung in Müller'scher Flüssigkeit vorzuziehen, Alcoholhärtung jedoch nicht ausgeschlossen. Bei der Lunge ist zum Schneiden oft Nachhärtung mit Gummilösung (p. 8) oder Celloidin (pg. 9) nöthig. Färbung wie bei 8.

11) Das **centrale Nervensystem.** Härtung nur in Müller'scher Flüssigkeit vorzunehmen; beim Rückenmark frühestens in 3—4 Monaten, beim Gehirn in 4—6 Monaten beendet. Aufbewahrung in Müller'scher Flüssigkeit ist nicht über 2 bis 3 Jahre auszudehnen. Zum Zwecke dauernder Aufbewahrung ist das Präparat nach Vollendung der Härtung gründlich zu wässern und dann in Spiritus (oder auch in Glycerin) aufzuheben. Vom 3. bis 8. Tage der Härtung in Müller'scher Flüssigkeit sind die Präparate zum Zerzupfen geeignet.

Färbung mit neutralem ausgefaultem carminsaurem Ammoniak, welches namentlich die Ganglienzellen und die Axencylinder färbt. Zum Aufsuchen von Entzündungsherden eignet sich Hämatoxylin

oder Alauncarmin. Doppelfärbungen mit Hämatoxylin und neutralem Carmin sind dringend zu empfehlen. Die Schnitte sind in Canadabalsam aufzuheben.

Bei Anwesenheit von Fettkörnchenzellen und sclerotischen Herden liefert ein mehrstündiges Einlegen der Schnitte in einprocentige Osmiumsäure sehr gute Bilder, doch dürfen dabei die Präparate zu keiner Zeit in Spiritus gelegen haben. Die Schnitte werden nach der Osmiumbehandlung gut und lange ausgewässert und in Glycerin oder in hartem Canadabalsam aufgehoben.

Zur Färbung der Nervenfasern im Centralnervensystem ist von Weigert (Fortschritte der Med. II. N. 6) in letzter Zeit folgendes Verfahren empfohlen worden:

Theile des Centralnervensystemes werden in Müller'scher Flüssigkeit gehärtet, werden aus dieser direct geschnitten oder ohne vorhergehende Auswässerung in Alcohol übertragen. In Alcohol schon grün gewordene Stücke werden wieder in Müller'sche Flüssigkeit gelegt, bis sie braun werden. Als Farbe benutzt man eine Mischung von Hämatoxylin 1,0, Alcohol 10,0, Wasser 90,0 und lässt sie vor dem Gebrauch einige Tage stehen. Die Schnitte kommen aus Alcohol direct, ohne vorherige Auswässerung, in die Farbe und werden in einer zugedeckten Schale einige Stunden in einen auf 40 ° erwärmten Brütofen gestellt. Danach werden sie in Wasser abgespült und in eine Flüssigkeit von folgender Zusammensetzung gebracht: Borax 2,0, Ferridcyancalium 2,5, Wasser 100,0. Nach einer halben bis ganzen Stunde oder auch erst nach längerer Zeit wird die graue Substanz gelblich, während die weisse schwarz bleibt. Man spült jetzt mit Wasser ab, behandelt mit absolutem Alcohol und Xylol und schliesst in Canadabalsam ein. Das Verfahren gibt sehr schöne Präparate.

12) Die **peripheren Nerven** und die **Ganglien** werden im Allgemeinen gleich behandelt wie das centrale Nervensystem. Zerzupfungspräparate geben in vielen Fällen sehr gute Bilder. Erhärtet sind die Nerven am leichtesten auf Querschnitten zu untersuchen.

Von Nerven mit markhaltigen Fasern erhält man gute Präparate durch Einlegen kleiner Stücke in Müller'sche Flüssigkeit, welcher etwa 10 % einer einprocentigen Osmiumsäurelösung zugesetzt ist, indem dadurch die Markscheiden geschwärzt werden. Es empfiehlt sich ferner auch, kleine Nervenstücke oder Gewebsscheiben, welche solche enthalten, frisch in einprocentige Osmiumsäure zu legen und je nach ihrer Dicke etwa 6 bis 24 Stunden liegen zu lassen. Erscheint der Nerv auf einem Durchschnitt vollkommen schwarz, so wird er ausgewässert und in Wasser zerzupft. Nach gründlicher Wässerung kann das Zupfpräparat in Glycerin aufgehoben werden. Von den mit Osmiumsäure behandelten Nerven können mit dem Gefriermikrotom Schnitte angefertigt und mit Hämatoxylin gefärbt werden. Sie lassen sich ferner auch durch Alcohol (24 Stunden), sowie durch Gummilösung (24 Stunden) und Alcohol (24 Stunden), oder auch

durch Müller'sche Flüssigkeit (3 Monate) nachhärten und dann mit jedem Mikrotom schneiden.

Nerven mit vorwiegend marklosen Remak'schen Fasern können mit Vortheil frisch in Osmiumsäure zerzupft und danach auf dem Objectträger mit Fuchsin gefärbt werden. Meist ist indessen eine sichere Beurtheilung erst nach sorgfältiger und vollständiger Härtung in Müller'scher Flüssigkeit zu erzielen, wobei dieselben Färbungen, wie bei Nerven mit markhaltigen Fasern zur Anwendung kommen.

13) Das **Sehorgan.** Sämmtliche Abschnitte lassen sich nur in Müller'scher Flüssigkeit gut härten. Die Aufbewahrung in Müller'scher Flüssigkeit ist hier länger möglich, als beim Centralnervensystem. Sollen Theile des Bulbus genauer untersucht, dabei die gegenseitigen Lagerungsbeziehungen der einzelnen Theile möglichst erhalten werden, so ist eine Einbettung der betreffenden Theile in Hühnereiweiss oder in Celloidin (pag. 9) oder in irgend eine andere Einschlussmasse unerlässlich. Häufig wird dabei zuerst eine Durchfärbung des Stückes in Beale'schem Carmin oder auch in Bismarkbraun vorgenommen, um die Schnitte sofort einlegen zu können. Neben den schon erwähnten Einbettungsmethoden steht noch eine Einbettung in Paraffin vielfach in Gebrauch. Das zu schneidende Stück wird dabei zuerst gefärbt, dann in absolutem Alcohol vollkommen wasserfrei gemacht und danach in Terpentinöl und weiterhin in eine gesättigte Lösung von Paraffin in Terpentinöl gebracht. Das so durchtränkte Stück wird etwa eine halbe Stunde in eine durch Erwärmung verflüssigte Paraffinmasse eingelegt und dann in einem Pappkästchen in Paraffin eingeschmolzen. Die Schnite kommen direkt auf den Objectträger und werden hier nach Entfernung des anhängenden Paraffins mit einer Mischung von wasserfreiem Kreosot und Terpentinöl 1 : 1 unter leichter Erwärmung des Objectträgers von ihrem Paraffin befreit und danach mit Canadabalsam bedeckt. Das Verfahren, sorgfältig ausgeführt, giebt gute Präparate.

Zur Kernfärbung werden Haematoxylin und Alauncarmin oder auch Anilinfarben benutzt. Die Retina wird wie die Gewebe des Centralnervensystemes behandelt. Für manche Veränderungen sind Doppelfärbungen sehr zu empfehlen.

14) Das **Gehörorgan.** Die Gewebe des Mittelohres und des inneren Ohres werden mit Müller'scher Flüssigkeit gehärtet; beim äusseren Ohr kann auch Alcohol dazu benutzt werden. Ist zum Schneiden der zu untersuchenden Stellen eine Entkalkung des angrenzenden Knochengewebes nöthig, so ist dieselbe erst nach vollendeter Härtung vorzunehmen. Bei Zerlegung des Präparates in kleine, später zum Schneiden mit dem Schlittenmikrotom taugliche Scheiben ist Entkalkung in Pikrinsäure möglich. Färbung wie bei 13.

15) Das **Knochensystem.** Knochen und Gelenke werden in Müller'scher Flüssigkeit oder in Alcohol gehärtet. Erstere liefert schönere Präparate. Die Entkalkung (s. pag. 5) darf erst nach vollendeter Härtung vorgenommen werden. Die in Müller'scher Flüssig-

keit gehärteten Präparate werden zuerst gründlich ausgewässert, einige Tage in Alcohol gelegt und dann erst entkalkt.

Färbung mit Haematoxylin und Alauncarmin; Doppelfärbung mit Haematoxylin und neutralem Carmin in vielen Fällen sehr zu empfehlen, so namentlich bei Untersuchung von periostalen und endochondralen Ossificationsvorgängen. Neutrales Carmin färbt den entkalkten Knochen sowie osteoides Gewebe roth. Die Grundsubstanz verkalkten Knorpels, dessen Kalksalze ausgezogen sind, färbt sich mit Haematoxylin meist sehr intensiv blauviolett.

Unverkalkter Knorpel ist in seinem Verhalten gegen neutralen Carmin und Haematoxylin inconstant, doch kann man sagen, dass ruhender Knorpel sich im Allgemeinen besser mit Carmin, wuchernder und hypertrophischer Knorpel dagegen intensiver mit Haematoxylin färbt.

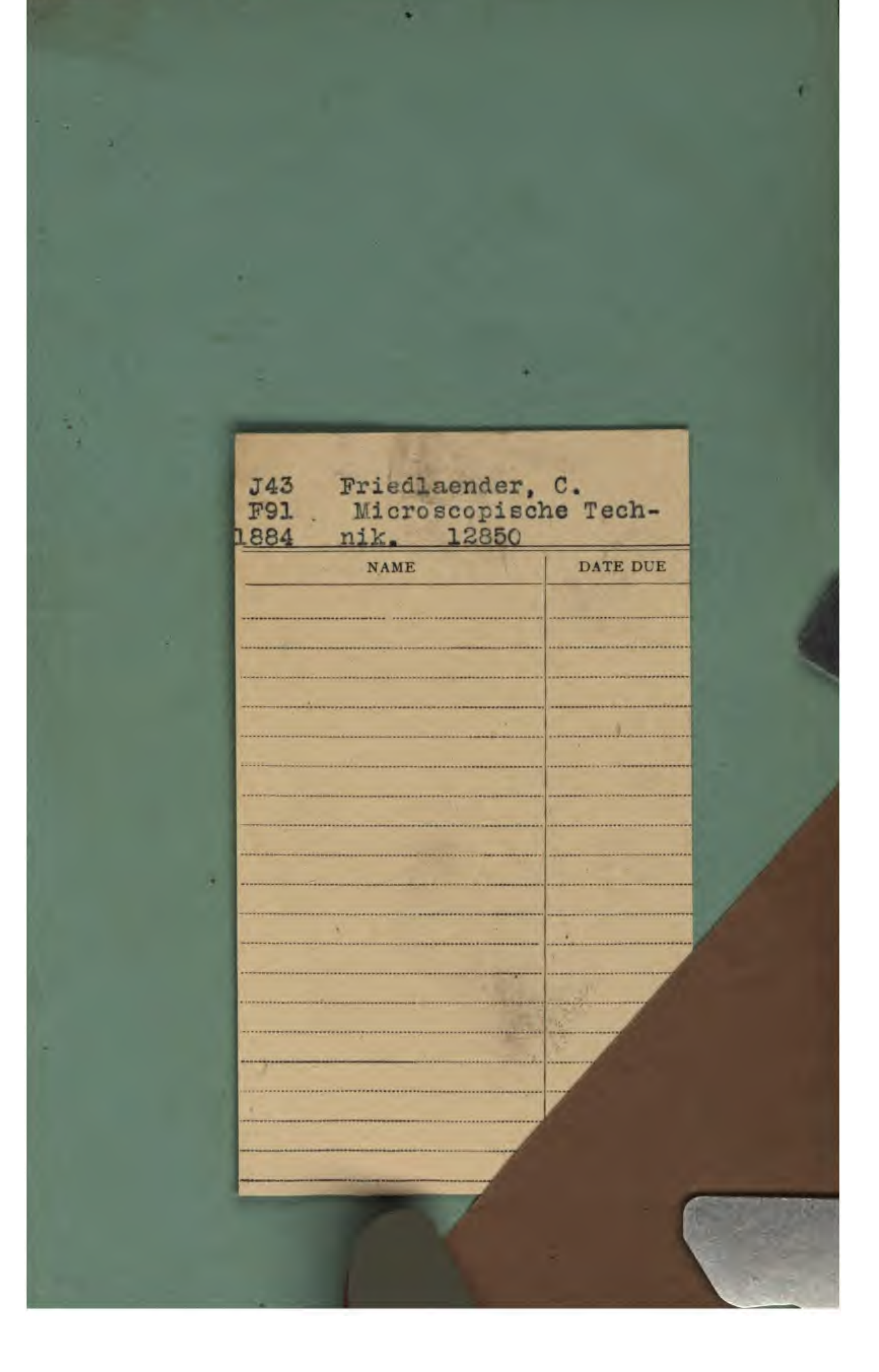
16) **Muskeln, Sehnen, Sehnenscheiden** und **Schleimbeutel** werden in Müller'scher Flüssigkeit gehärtet. Färbung mit Haematoxylin und Alauncarmin. Doppelfärbungen mit Alauncarmin und Eosin oder auch mit Haematoxylin und neutralem Carmin.

17) **Männlicher und weiblicher Geschlechtsapparat.** Die Härtung kann sowohl in Alcohol als in Müller'scher Flüssigkeit vorgenommen werden, doch liefert letztere die besseren Präparate, namentlich von den Keimdrüsen und der Placenta. Will man bei letzterer das Auseinanderfallen der Schnitte vermeiden, so bettet man geeignete Stücke in Celloidin (pag. 9) oder in Eiweiss (pag. 8) ein. Färbung wie bei 16.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.







J43 Friedlaender, C.
F91 Microscopische Tech-
1884 nik. 12850
NAME
DATE DUE

